

SÉRIE A, N° 4059

N° D'ORDRE :

4910

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Paul ROLLIN

1^{re} THESE. — INFLUENCE DE LA LUMIÈRE ET DE LA TEMPÉRATURE
SUR LA GERMINATION.

2^{me} THESE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 18 Avril 1963, devant la Commission d'examen :

MM. CHOUARD..... *Président*

CAMUS..... {
LEMÉE..... { *Examineurs*

MONTPELLIER
Imprimerie Paul DEHAN

1963



Digitized by the Internet Archive
in 2026

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Paul ROLLIN

1^{re} THÈSE. — INFLUENCE DE LA LUMIÈRE ET DE LA TEMPÉRATURE
SUR LA GERMINATION.

2^{me} THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 18 Avril 1963, devant la Commission d'examen :

MM. CHOUARD..... *Président*

CAMUS..... }
LEMÉE..... } *Examineurs*



PROFESSEURS

Doyen ZAMANSKY

G. JULIA	T Analyse supérieure et Algèbre supérieure	Mme LE LONG	T Mathématiques (E.N.S.)
DE BROGLIE	T Théories physiques	BRELLAIR	T Géologie (S.P.C.N.)
PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées	COTTE	T Physique électricité
GRASSE	T Evolution des êtres organisés	DUBOIS J.E.	T Chimie organique
PREVOST	T Chimie organique	LAMOTTE	T Zoologie (E.N.S.)
CHAUDRON	T Chimie appliquée	MICHEL A.	T Chimie Minérale (Orsay)
WYART	T Minéralogie et Cristal.	OLMER	T Energétique générale
TEISSIER	T Zoologie	ROUAULT	T Electricité (Orsay)
MANGENOT	T Biologie Vég. (Orsay)	GAUTHIER	T Mécanique appliquée
AUGER	T Physique quantique et Relativité	BARCHENITZ	T Chimie Physique
MONNIER	T Physiologie Générale	BROSSEL	T Physique atomique
PIVETEAU	T Paléontologie	BUSER	T Physiologie comparée
ROCARD	T Physique (E.N.S.)	CAMUS	T Physiologie Vég. BMPV
CARTAN	T Mathématiques (E.N.S.)	CASTANG	T Physique (Orsay)
LAFFITTE	T Chimie générale	CURIEN	T Minéralo. et Cristallog.
FAVARD	T Géométrie supérieure	MOYSE	T Physiologie Vég. (Orsay)
COULOMB	T Physique du Globe	NOIROI	T Evolution des Etres Org.
Mlle COUSIN	T Biologie Animale (SPCN)	PANNETIER	T Chimie générale (Orsay)
CHRETIEN	T Chimie minérale	POSSOMPES	T Zoologie
DRACH	T Zoologie	PULLMANN	T Chimie théorique
KANTLER	T Physique (E.N.S.)	TEILLAC	T Physique Nucl. et Radio- activité
EPHROSSI	T Génétique	TONNELAT	T Biologie Physico-chim.
RIVIERE	T Géologie SPCN et géom.	VILLE	T Econométrie
GAUTHIERET	T Biologie Vég. (P.C.B.)	WILLEMART	T Chimie (P.C.B.)
LUCAS R.	T Recherches Physiques	DODE	T Chimie (Orsay)
THOMAS A.	T Biologie cellulaire	FREYMANN	T Recherches Physiques
ARNULF	T Optique appliquée.	GUINOCHE	T Biol. Vég. SPCN (Orsay)
MORAND	T Physique Enseignement	ROLLET	T Chimie (P.C.B.)
SOLELLEL	T Physique (P.C.B.)	Mlle JOSIEN	T Chimie S.P.C.N.
PORTIER	T Mécanique exp. des Fluides	CHEVALLEY	T Géométrie algébrique et théorie des groupes
DANJON	T Astronomie	ARNOULT	T Electronique (Orsay)
PEIT	T Biologie maritime	CHAPELLE	T Physique (Orsay)
QUENEY	T Météorologie et dynamique atmosphérique	DEPLANGE	T Mathématiques (Orsay)
GALLIEN	T Botanique	JENY	T Mathématiques Gén. Orsay
EICHHORN	T Biologie Végétale (SPCN)	GERMAIN	T Mécan. théor. des Fluides
DE CUGNAC	T Chimie Physique	LUCAS G.	T Géologie
Mlle GAUCHOIS	T Physique du Globe	ALLARD	T Chimie Physique
THELLIER	T Chimie Générale (Orsay)	BERTHELOT	T Phys. Fondamentale des Hautes Energies (Orsay)
L'HERITIER	T Radioélectricité (Orsay)	BRICART	T Météorologie et phys. de l'Atmosphère.
GRIVET	T Mécanique Générale	Mme ALBE-FESSARD	T Psychophysiologie
PONCIN	T Arithmétique et théorie des Nombres	FRIEDEL	T Physique des Solides (Ors)
DUBREIL	T Chimie Organique	M. JULIA	T Etudes des Moléculaires naturelles complexes
QUELET	T Géophysique appliquée	LENDER	T Biol. Animale (SPCN) Orsay
CAGNIARD	T Chimie macromoléculaire	MAGAT	T Physico-chimie des radio- éléments
CHAMPETIER	T Micropaléontologie	Mlle QUINTIN	T Electrochimie
CUVILLIER	T Pétrographie	MORO	T Chimie du métabolisme
JUNG	T Microscopie et diffrac- tion électronique	BERNOI	T Physiol. Anim. (Orsay)
TRILLAT	T Chimie organique et struc. de l'Orsay	DE POSSEL	T Analyse numérique
WIEGMANN	T Spectroscopie et physique céleste (Orsay)	CHARLOT	T Chimie analytique
JACQUINOT	T Physique de l'atmosphère	HAISINSKY	T Radiochimie
VASSY	T Théories Physiques	LEME	T Physiol. Vég. BMPV (Orsay)
DESTOUCHES	T Chimie générale	GUERIN	T Chimie M.P.C. (Orsay)
AMIEL	T Minéralogie et Cristallog.	CHATELET M.	T Chimie (P.C.B.)
HOCART	T Physique (Optique)	JEAN	T Physique Nucléaire (Orsay)
J.P. MATHIEU	T Biologie animale (P.C.B.)	MATTLER	T Physique S.P.C.N.
COUTEAUX	T Zoologie (Orsay)	MICHEL L.	T Phys. Théor. des Hies Energies (Orsay)
MAY	T Théorie des fonctions et Topologie	BERGERARD	T Zoologie (Orsay)
CHOQUET	T Biologie Végétale marine	BERTIN	T Electronique (Orsay)
FELDMANN	T Physique des solides (Orsay)	BOUSSIÈRES	T Chimie des Radioéléments (Orsay)
GUINIER	T Physiologie comparée	Mme COUTURE	T Thermodynamique et Méc. Physique
JOST	T Calcul des Probabilités et Physique mathématique	ELLENBERGER	T Géologie appl. s/le terr.
FORTET	T Calcul diff. et intégral	FRANC	T Biol. Animale (P.C.B.)
SCHWARTZ	T Physiologie Végétale	SCHNELL	T Botanique tropicale (Orsay)
CHOUARD	T Aviation (Techn. Aéronaut.)	STOLKOWSKI	T Physiologie générale
MALAVARD	T Calcul diff. et intégral.	ACHER	T Chimie Biol. (Orsay)
BRELOT	T Synthèse organique générale	BAUDOUIN	T Biologie animale P.C.B.
NORMANT	T Chimie Minérale	BEAUMONT	T Biologie animale SPCN
BERNARD	T Botanique (E.N.S.)	BLAMONT	T Géophysique ionosphère
BUVAT	T Statistiques Mathématiques	BOURBEAU	T Botanique
DUGUE	T Psychophysiologie	CURIE D.	T Physique (M.G.P.)
SOULAIRAC	T Physiologie Végétale	DURAND-DELA	T Géologie
ULRICH	T Optique théorique et Appl.	FREON	T Chimie organique (Orsay)
MARECHAL	T Théories Chimiques	HELLER	T Physiologie végétale
CHADEFAUD	T Botanique	TORTRAT	T Calcul des Probabilités
Mlle LE BRETON	T Physiologie de la nutri.	CAILLEUX	T Géologie (S.P.C.N.)
SALEM	T Mathématiques générales	MAGNAN	T Physique (S.P.C.N.)
LELONG	T Appl. de l'analyse à la géométrie	DAUDEL	T Mécanique ondulatoire appl. à la Chim. Théor. et à la Phys. Nucléaire
DEVILLERS	T Anatomie et Histologie Comp.	Mlle FOURCHOY	T Biol. Végétale (SPCN)
EHRESMANN	T Topologie Algébrique	Mme CHOQUET-BRUHAT	T Méc. Analytique et Méc. céleste
FRANCON	T Physique (S.P.C.N.)	Mlle VEIL	T Physiologie Générale
GLANGEAUD	T Géographie phys. et Géologie dynamique	LWOFF	T Microbiologie
CODEMENT	T Mathématiques (M.P.C.)	NESTRUNK	T Méc. Phys. et Expérim.
PISOT	T Tech. Math. de la Phys.	LACOMBE	T Métallurg. des métaux Nucl.
ROCH	T Géologie	BROCHARD	T Physique P.C.B. (Orsay)
SCHATZMAN	T Astrophysique	CABANNES	T Mécanique générale
TERMIER	T Paléontologie stratig.	LESIEUR	T Mathématiques MPC (Orsay)
ZAMANSKY	T Mathématiques générales	MAZET	T Mécanique générale (Orsay)
LENNUIER	T Physique (M.G.P.)	CAIRE	T Géographie phys. et Géol. Dynamique
RIZET	T Génétique (Orsay)	COMOLET	T Mécanique des Fluides
ROUTHIER	T Géologie appliquée	CORABOEUF	T Physiologie Animale
Mme TONNELAT	T Physique Théorique	DELLOUE	T Physique de l'exosphère
DIXMIER	T Mathématiques (M.P.C.)	CORENFLOT	T Botanique II (Orsay)
SOUCIAY	T Chimie générale	HOULLON	T Biologie Animale P.C.B.
AIGRAIN	T Electrotechnique gén.	JULLIEN J.	T Chimie P.C.B.
BRUSSET	T Chimie systématique	MALGRANGE	T Tech. Math. de la Phys.
M. LEVY	T Physique théorique des hautes énergies (Orsay)	OLIVIER	T Antropologie
Mme CHAIX	T Chimie biologique	NOZERAN	T Botanique II (Orsay)
Mme HUREL-PY	T Biologie Végétale (PCB)	BLANC-LAPIERRE	T Physique ENS. (Orsay)
PIAUX	T Chimie (M.P.C.)	CHEVAUOEON	T Botanique (Orsay)
BRUN	T Méc. théorique des Fluides	KAHANE	T Mathématiques (Orsay)
LEDERER	T Chimie biologique	SAMUEL	T Mathématiques ENS (féminin)
Mme DUBREIL	T Mathém. (Agrégation)	KOURGANOFF	T Astronomie (Orsay)
		THIERY	T Mécanique céleste

ERRATA

- Page 10, ligne 11, *au lieu de* « précité », *lire* : « précipité »
- Page 39, ligne 12, *au lieu de* « ses », *lire* : « ces premières expériences »
- Page 42, ligne 15, *au lieu de* « spectre d'action », *lire* : « le spectre d'action »
- Page 75, ligne 4 : *lire* : les graines, semées sur papier filtre humide, sont placées à 15° C pendant un certain nombre d'heures, puis sont transférées à 22° C sur un milieu contenant une solution d'acide gibbérannique à 3×10^{-4}
- Page 89. Légende fig. 42, *lire* : Evolution de l'intensité respiratoire (I.R.) des graines de *Nemophila insignis* en fonction du temps.
- Page 94, ligne 13, *au lieu de* température *lire* : température
- Page 152, ligne 7, supprimer le signe ‰
-

INTRODUCTION

La lumière est un facteur très important de la germination. Dans le cas d'une stimulation de la germination, on parle de semences à *dormance photolabile* ; on dit encore que la germination est à *photosensibilité positive*.

Les termes de *dormance scotolabile* ou de germination à *photosensibilité négative* sont réservés aux semences dont la germination est inhibée par la lumière.

La stimulation de la germination a fait l'objet d'un grand nombre de recherches mais nos connaissances présentent de grandes lacunes.

Cela tient tout d'abord au fait que les expériences portent sur un tout petit nombre d'espèces ce qui interdit toute généralisation des hypothèses.

De plus si l'on considère les expériences faites sur la germination des akènes de Laitue variété « Grand-Rapids », on est bien obligé de constater des variations sensibles dans les résultats obtenus par les différents chercheurs.

Enfin certaines questions sont restées sans réponse. Ainsi des éclaircissements brefs n'ont pas toujours la même action que des éclaircissements continus ; il serait donc possible que la lumière agisse par l'intermédiaire de plusieurs photorécepteurs.

La germination des graines à photosensibilité négative a fait l'objet de très peu de recherches. Une étude complète de la question s'impose donc.

Il nous a semblé utile de reprendre l'ensemble de ce problème. Pour cette étude nous avons choisi tout d'abord deux graines dont la germination est inhibée par la lumière : *Phacelia tanacetifolia* et *Nemophila insignis*. Nous précisons ensuite les conditions de la stimulation de la germination par la lumière d'un akène (*Bidens radiata*) et d'une graine (*Lythrum Salicaria*).

Ces recherches devaient nous permettre d'expliquer l'existence de comportements à la lumière aussi différents et de comprendre les mécanismes qui s'enchaînent pour provoquer ou inhiber la germination.

★★

Monsieur le Professeur R. COMBES, Membre de l'Institut, a bien voulu se charger de présenter nos communications à l'Académie des Sciences. Nous le prions d'accepter nos remerciements respectueux.

Nous tenons à exprimer notre attachement et notre reconnaissance à Monsieur le Professeur P. CHOUARD, Titulaire de la Chaire de Physiologie Végétale à la Sorbonne, pour nous avoir accueilli dans son laboratoire et nous avoir guidé dans notre travail malgré les nombreuses charges qu'il supporte. Il a exercé sur notre formation une grande influence en nous montrant ce qu'était la physiologie végétale.

Que Monsieur le Professeur G. CAMUS trouve ici l'expression de notre reconnaissance pour l'aide qu'il nous a apportée. Déjà, lors de notre thèse de troisième cycle, ses conseils et ses remarques judicieuses avaient été pour nous un enseignement très précieux.

Nous savons gré à Monsieur le Professeur LEMEE d'avoir bien voulu examiner en détail notre mémoire et de nous avoir fait profiter de ses suggestions.

Au cours d'un séjour à Freiburg, le Professeur H. MOHR, Directeur de l'Institut de Botanique, nous a fait part de ses observations concernant divers aspects du rôle joué par la lumière sur la morphogénèse. Qu'il veuille bien accepter nos remerciements.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à Monsieur le Professeur A. MOYSE qui nous a donné de nombreux conseils pour l'étude de l'action de la lumière.

Nous voulons aussi exprimer notre gratitude à nos collègues dont l'aide nous a été très précieuse pendant notre travail ; nous pensons ici particulièrement à Madame PICARD.

Mesdemoiselles BREGEAUT et BIRUKOFF nous ont aidé dans nos recherches ; nous les en remercions vivement.

Nous voulons aussi remercier mesdemoiselles BIDAULT et FLEURY dont la collaboration a été très précieuse.

PREMIERE PARTIE

HISTORIQUE

Les travaux sur l'influence de la lumière sont très nombreux : des ouvrages de synthèse leur sont consacrés, surtout entre les années 1953 et 1956 (22, 113). Aussi les résultats postérieurs à ces années seront-ils plus particulièrement analysés.

Dans une première partie les conclusions des travaux portant sur la photostimulation de la germination sont envisagées. La deuxième partie est consacrée aux conditions de la photoinhibition de la germination.

I. - La Photostimulation de la germination

Les résultats exposés ici concernent les caractéristiques de l'action de la lumière et les facteurs qui modifient son action.

A. — Influence de la lumière.

1. — ACTION QUANTITATIVE. La sensibilité des graines à la lumière varie beaucoup d'une espèce à l'autre. En utilisant une lumière blanche d'intensité égale à 1000 lux, ISIKAWA et SHIMOGAWARA (53) discernent quatre types de réponse parmi les graines:

— type *Nicotiana* : à ce groupe appartiennent les graines les plus sensibles. Elles répondent à des éclairagements de durée comprise entre quelques secondes et une minute.

— type *Plantago* : ces graines germent après un seul éclairement plus long (1 heure).

— type *Epilobium* : un éclairement prolongé de 24 heures est nécessaire à la germination de ces graines.

— type *Hypericum* : la germination nécessite de nombreux éclaircements répétés chaque jour.

Enfin certaines graines, qui germent après des expositions de courte durée à la lumière, peuvent être inhibées par des éclaircements continus. C'est le cas des graines d'*Amarantus retroflexus* (56) et d'*Amarantus fimbriatus* (102).

2. — ACTION QUALITATIVE DE LA LUMIÈRE LORS D'UN ÉCLAIREMENT DE FAIBLE DURÉE. GISLAR remarque en 1883 que la lumière jaune stimule autant que la lumière blanche la germination des graines de *Poa Pratensis* (22). KINZEL, en 1920, observe que les radiations visibles de longueur d'onde élevée stimulent la germination. Mais ce n'est qu'en 1936 qu'est déterminé assez correctement le spectre d'action de la lumière. FLINT et Mc. ALISTER (28), utilisant les akènes de *Lactuca sativa* var. « Grand Rapids », mettent en évidence les faits suivants :

— la lumière rouge clair (500-700 m μ) stimule la germination avec un maximum à 670 m μ ,

— la lumière rouge sombre (700-800 m μ) inhibe la germination avec un maximum à 760 m μ ,

— la lumière bleue (400-480 m μ) l'inhibe également.

A partir de 1948 l'étude du spectre d'action de la lumière sur la germination est entreprise avec précision en Israël par EVENARI et ses collaborateurs (23, 27) et aux Etats-Unis par BORTHWICK, HENDRICKS, E.H. TOOLE, V.K. TOOLE (8, 45, 112, 114, 117). Analysant les conditions de germination des akènes de Laitue variété « Grand Rapids », ils montrent les faits suivants :

— LA LUMIÈRE ROUGE CLAIR STIMULE LA GERMINATION avec un maximum à 660 m μ . A cette longueur d'onde une énergie incidente de 2×10^4 ergs/cm² est nécessaire pour obtenir 50% de germination (Figure 1). La stimulation est une fonction exponentielle de l'éclairement.

— LA LUMIÈRE ROUGE SOMBRE (730 m μ) MAINTIENT LES GRAINES DORMANTES et anihile l'action stimulante de la lumière rouge clair, donnée préalablement. A 730 m μ une énergie incidente de 50×10^4 ergs/cm² est nécessaire pour réduire la germination de 50% de graines préalablement exposées à la lumière rouge clair. Cette réaction est une fonction linéaire de l'éclairement.

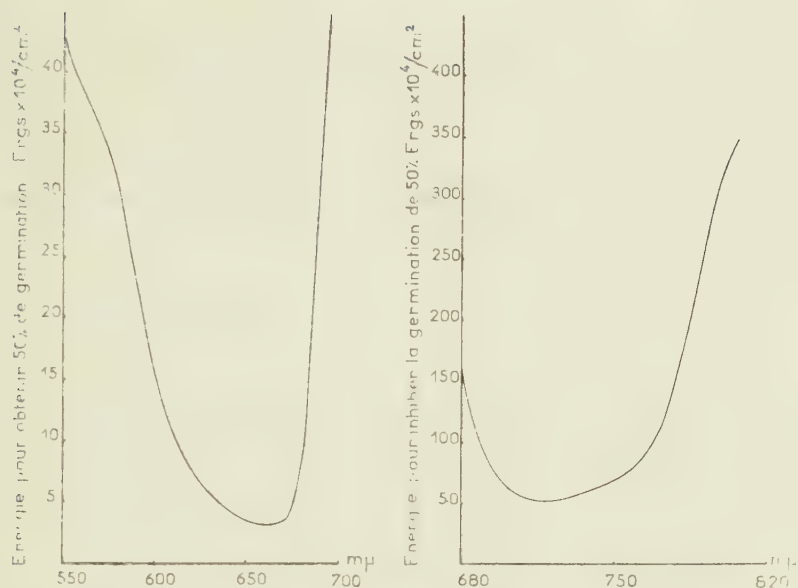


FIGURE 1. — Stimulation par la lumière rouge clair et inhibition par la lumière rouge sombre de la germination des akènes de la Laitue var. « Grand Rapids » : énergie incidente requise pour stimuler ou inhiber la germination de 50 % (d'après BORTHWICK et coll.).

Cette réversibilité d'action entre ces deux lumières est alors mise en évidence par de nombreux chercheurs sur des semences

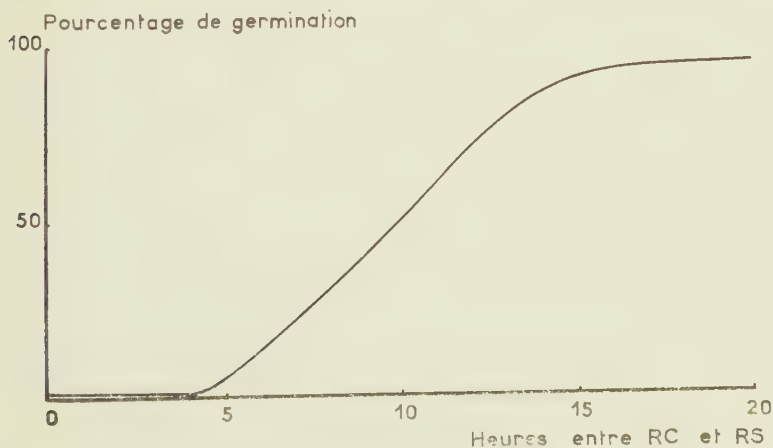
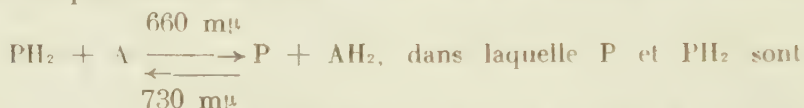


FIGURE 2. — Pourcentage de germination des akènes de Laitue en fonction de la durée de la période d'obscurité intercalée entre les expositions aux lumières rouge clair et rouge sombre (d'après BORTHWICK et coll.).

variées, telles que *Chenopodium rubrum* (49), *Lamium amplexicaule* (3), *Lythrum Salicaria* (113), *Nicotiana Tabacum* (113), *Amarantus retrofractus* (56), *Betula pubescens* (4) et *Lepidium virginicum* (117). L'antagonisme entre les lumières rouge clair et rouge sombre ne se produit pas si une période d'obscurité assez longue est intercalée entre les expositions à ces deux lumières (Figure 2).

Pour expliquer l'action de la lumière BORTHWICK exprime l'hypothèse suivante : il se produit dans la graine une réaction que l'on peut résumer ainsi :



les formes oxydées et réduites d'un pigment présentant respectivement un pic d'absorption à 660 et 730 m μ . A et AH₂ sont des accepteurs et des donneurs d'hydrogène. Le pigment oxydé P est une enzyme qui contrôle une des réactions essentielles de la germination. BORTHWICK et ses collaborateurs donnent le nom de « **PHYTOCHROME** » à ce pigment (9).

La forme PH₂ est stable à l'obscurité alors que la forme P se transforme lentement en la forme PH₂. Cette transformation se produit à température tiède mais pas à basse température (3° C).

L'action enzymatique, dont la conséquence est une réponse à la lumière, se poursuit tant que P est présent, mais cesse dès que P est transformé en PH₂. Il s'agit d'une réaction nécessitant une faible quantité de lumière.

Le fait que certaines graines aient besoin d'un éclaircissement prolongé pour germer peut faire croire que la germination n'est pas commandée par cette réaction à faible énergie. Pourtant ISIKAWA et OOHUSA (52) montrent en 1956 que cette hypothèse n'est pas valable. En effet ils observent que deux éclaircissements d'une heure séparés par 15 heures d'obscurité ont autant d'effet que 16 heures d'éclaircissement continu.

Le fait qu'une seule exposition d'une heure ne stimule pas la germination peut s'expliquer ainsi : le pigment P, absorbant la lumière rouge sombre, formé après le premier éclaircissement de lumière rouge clair, se transforme lentement à l'obscurité dans sa forme PH₂ qui ne stimule pas la germination. Au bout de 15 heures il ne reste pratiquement plus de pigment sous sa forme P. Si, à ce moment là, un deuxième éclaircissement d'une heure est donné, le pigment se trouve de nouveau transformé dans sa forme P. Ainsi deux éclaircissements d'une heure, séparés par 15 heures d'obscurité, permettent au pigment de rester au total 30 heures

dans sa forme qui stimule la germination ce qui peut être alors suffisant pour provoquer la photoréaction.

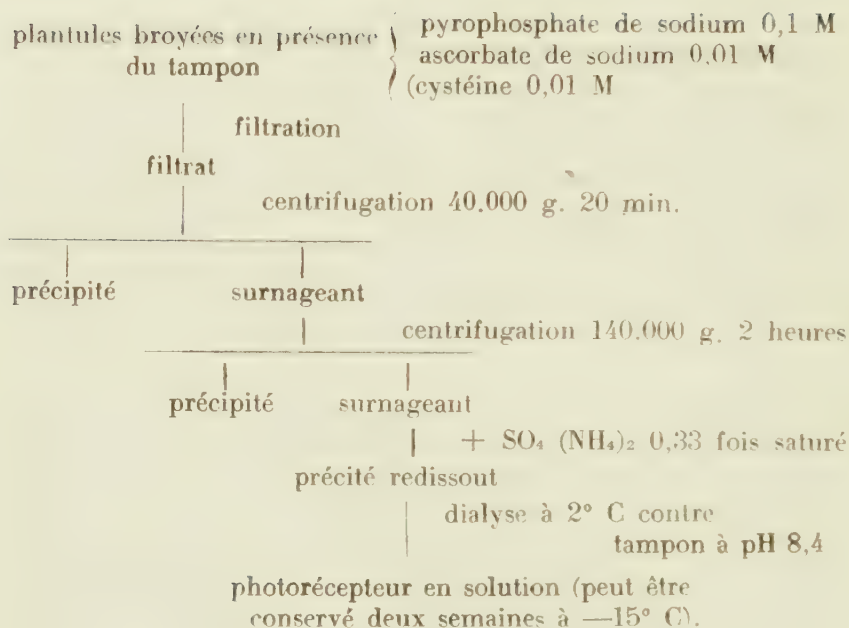
Dans le cas de la germination de graines ou de spores qui nécessite des éclairements très prolongés, on n'obtient pas de germination avec le système précédent comportant deux éclairements séparés par un long intervalle obscur. Il semble que la conversion du pigment à l'obscurité dans sa forme absorbant la lumière rouge clair s'accomplisse trop vite pour que la photoréaction puisse se produire. Cela peut expliquer le très bel effet stimulant obtenu par de nombreux éclairements brefs et rapprochés sur la germination des spores de *Dryopteris* (52).

3. — ACTION QUALITATIVE DE LA LUMIÈRE LORS D'UN ÉCLAIREMENT CONTINU. KADMAN-ZAHAVI montre, en 1958, qu'un éclairement court de lumière blanche stimule la germination des graines d'*Amarantus retroflexus* alors qu'un éclairement continu provoque une inhibition (56). La stimulation est déterminée par la lumière rouge clair et anihilée réversiblement par la lumière rouge sombre. L'inhibition est due à la lumière rouge sombre et n'est pas supprimée par la lumière rouge clair. Un très long temps à l'obscurité est alors nécessaire pour que la lumière rouge clair puisse stimuler de nouveau la germination.

La réaction à faible énergie $PH_2 \rightleftharpoons P$ contrôle non seulement la germination mais aussi d'autres phénomènes tels que la formation des anthocyanes, la croissance des hypocotyles, des entrenœuds et des cotylédons ainsi que l'ouverture du « crochet » des plantules. HENDRICKS (44, 45, 46) et MOHR (72, 73, 77) remarquent que des éclairements continus provoquent souvent les mêmes photoréactions que des éclairements courts. Dans ce cas les lumières rouge sombre, et, parfois bleue, sont les seules actives.

HENDRICKS, BORTHWICK et leurs collaborateurs pensent que le phytochrome est à l'origine des deux photoréactions alors que MOHR croit à la présence d'un autre photorécepteur (74, 78). Il observe, en effet, que ces deux types d'éclairement agissent le plus souvent en synergisme mais qu'ils peuvent avoir parfois des actions opposées ; ainsi chez les plantules de Laitue, le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre provoque la fermeture du crochet alors que les lumières rouge sombre et bleue en déterminent l'ouverture.

4. — NATURE DES PHOTORÉCEPTEURS. En 1960, BUTLER, NORRIS, SIEGELMAN et HENDRICKS (11) réussissent à isoler le photorécepteur responsable de la réaction à faible énergie. La méthode de séparation utilisée est la suivante :



Toutes ces manipulations sont réalisées à + 2° C. Cet extrait présente *in vitro* une modification du spectre d'absorption après exposition aux lumières rouge clair et rouge sombre. Le phytochrome serait une protéine unie à un chromogène tétrapyrrolique à chaîne ouverte.

On ne sait rien sur la nature du photorécepteur responsable de l'action des lumières rouge sombre et bleue. Mour pense qu'il s'agit d'une métalloprotéoflavine à cuivre (74).

B. - Modifications de l'action de la lumière.

Certains facteurs physiques et chimiques sont susceptibles de modifier le comportement des graines à la lumière.

1. — INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE. Les résultats sont très nombreux mais leur interprétation est souvent incomplète. On peut cependant déceler trois effets différents de la température :

— *action totalement indépendante de la lumière* : La germination de nombreuses graines est inhibée par des températures voisines de 30° C et ceci indépendamment des conditions d'éclairement. Après un long séjour à ces températures les graines ne

germent plus à la lumière. On dit qu'elles sont THERMODORMANTES. L'ablation des téguments lève cette dormance. C'est le cas des graines de *Plantago* (22) et de *Betula* (4).

— *action parallèle à celle de la lumière* : Un certain nombre de graines ne germent pas à température constante à l'obscurité ; par contre la germination peut se produire en alternances de température. C'est le cas des semences de *Bidens tripartita* (91), de *Lythrum Salicaria* (96) et de *Lepidium virginicum* (116). CROCKER et BARTON, ainsi que HUTCHINGS, considèrent que ces alternances de température sont susceptibles de déterminer les mêmes réactions que la lumière (18, 22). Par contre E.H. TOOLE et ses collaborateurs observent que chez les graines de *Lepidium virginicum* la lumière rouge clair provoque la germination de 30% des graines, les autres ne germent qu'en alternances de température (116). Ces auteurs pensent, ainsi qu'EVENARI, que deux mécanismes de nature différente contrôlent la germination, l'un est commandé par la température, l'autre par la lumière.

— *action directe sur la photosensibilité des graines*. La germination de certaines semences est soit stimulée soit inhibée par la lumière suivant la température de l'expérience. Le tableau I résume les résultats obtenus par BAAR (2) sur les graines d'*Amarantus caudatus*.

TABLEAU I

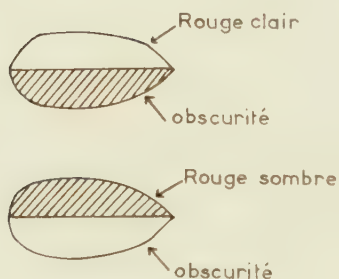
Influence de la température sur la germination, à la lumière et à l'obscurité, des graines d'*Amarantus caudatus*.

température en °C	Pourcentage de germination	
	lumière	obscurité
5	0	10
10	10	35
20	35	48
25	33	33
35	38	29
40	37	0

2. — INFLUENCE DES TÉGUMENTS. L'ablation des téguments élimine la nécessité d'un éclaircissement pour la germination : l'embryon germe aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière. Ces

observations font dire que la dormance à l'obscurité est d'origine tégumentaire. Des piqures dans le tégument ou des scarifications mécaniques produisent les mêmes effets que son ablation. La scarification est efficace si elle est réalisée au pôle radiculaire. La région radiculaire seule semble donc sensible à la lumière. Toutefois, KLEIN et PREISS (58) montrent que chez les akènes de Laitue la réversibilité entre les lumières rouge clair et rouge sombre demeure, même si les akènes sont retournés entre les deux éclairagements (Figure 3). IKUMA et THIMANN (49) obtiennent des résultats différents en retournant les graines de façon à ce que la région radiculaire ne reçoive qu'un des deux éclairagements (Fig. 3). Ils constatent, dans ce cas, que la réversibilité ne se produit pas. Si la région radiculaire n'est pas éclairée la lumière n'a aucune influence sur la germination. IKUMA et THIMANN en concluent que le photorécepteur est présent uniquement dans la région radiculaire.

KLEIN et PREISS



IKUMA et THIMANN

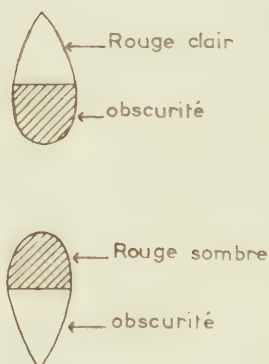


FIGURE 3. — Schéma récapitulant les expériences de KLEIN et PREISS ainsi que celles de IKUMA et THIMANN.

3. — INFLUENCE DES FORTES TENSIONS D'OXYGÈNE. Les semences de la Laitue (22) et du Bouleau (4), placées dans des atmosphères riches en oxygène, peuvent germer à l'obscurité. On ne sait pas encore comment intervient l'oxygène.

4. — INFLUENCE DES STIMULANTS DE LA GERMINATION. D'assez nombreuses substances peuvent provoquer la germination ou modifier la photosensibilité des graines.

— *les nitrates*. En 1909, LEHMANN (62) montre que les graines de *Ranunculus sceleratus* germent mieux lorsqu'elle sont humidi-
fiées par une solution de KNO_3 . HESS (47) observe alors que la
germination de certaines graines nécessite absolument la présence
de nitrates alors que dans d'autres cas elle est seulement stimulée
(*Lythrum Salicaria*). Le rôle des nitrates dans la germination
n'est pas nettement défini. MAIER et CROCKER (17, 18, 68, 69) pensent
que les nitrates peuvent éliminer la nécessité d'un éclaircissement.
Ainsi, MAIER écrit en 1933 que « les nitrates augmentent la
sensibilité des graines de *Poa* à la lumière ». Par contre, GASSNER
(31, 34) et LEGATT (61) considèrent que les nitrates ont une action
différente de celle de la lumière. Cette dernière hypothèse est
renforcée par de nombreuses observations :

— la germination de certaines semences photosensibles n'est
pas influencée par les nitrates (70, 96, 106).

— la germination des graines de *Chloris ciliata* et de *Digitaria
ischæmum* est stimulée par les nitrates quelle que soit la
température. Par contre la lumière stimule la germination à
température supérieure à 22° C et l'inhibe à température inférieure
à 22° C. (32).

Il ne semble donc pas que les nitrates interviennent dans le
processus photosensible. On ne sait rien sur leur mode d'action
Toutefois, des observations faites par OGAWARA et OHO (122)
pourraient servir de base à une expérimentation approfondie : les
nitrates stimulent la germination des graines de tabac ; le nitrate
d'ammonium est le plus actif ; les nitrites et l'hydroxylamine
exercent la même action.

— *La thiourée et les substances à fonction thiol*. La thiourée,
en solution à 0,2%, stimule la germination à l'obscurité des
akènes de Laitue. La cystéine et le glutathion produisent les mêmes
effets. BAILEIGH, THOMPSON et KOSAR (108, 109), EVENARI et ses
collaborateurs (22, 23), les auteurs de ces travaux, n'expliquent
pas l'action de ces substances.

— *les kinines*. DEYSSON, dans une mise au point faite en 1959
(21), analyse les résultats qui peuvent être ainsi résumés :

— la kinétine ne peut pas éliminer la nécessité d'un éclai-
rement pour obtenir la germination mais elle sensibilise les graines
à la lumière. Ces faits sont mis en évidence par MÜLLER (21) en
1959, et confirmés par WEISZ (123) en 1960.

— l'action de la kinétine dépend de la température : selon
HABER et TOIBERT (41) la kinétine stimule la germination à

température élevée (30 - 37° C) mais n'a aucune activité à plus faible température (17° C).

— l'acide gibbérellique (GA₃). Depuis 1956 de nombreux chercheurs analysent l'influence de GA₃ sur la germination. Les résultats obtenus mettent en évidence trois types différents d'action :

— *augmentation de la vitesse de germination*. Cet effet est indépendant de la photostimulation, car il s'observe chez toutes les graines.

— *interaction avec la lumière*. Aux concentrations élevées l'acide gibbérellique supprime la nécessité d'un éclairage. Ce fait est observé par LONA sur *Lactuca scariola* (66), par ROLLIN sur *Bidens radiata* (95), par KAHN sur *Lactuca sativa* (57) et par V. K. TOOLE et CATHEY sur *Lepidium virginicum* (120). Ces derniers auteurs remarquent que l'acide gibbérellique, en solution à faible concentration, ne stimule pas la germination mais augmente la sensibilité des graines à la lumière; la concentration optimale varie beaucoup suivant l'espèce étudiée : 1000 ppm pour *Carnegiea gigantea* (1), 500 ppm pour *Bidens radiata* (95) et 60 ppm pour *Lactuca sativa* (120). Pour les semences d'une même variété, telles que les akènes de *Lactuca sativa* variété « Grand Rapids », la concentration optimale varie suivant les auteurs : 60 ppm pour EVENARI, 300 ppm selon HABER et TOLBERT (41) et 1000 ppm d'après V.K. TOOLE et CATHEY (120).

LONA (66), BUNSON et BREDOW, POLJAKOFF-MAYBER (84) pensent que les réactions déterminées par l'acide gibbérellique ne sont pas les mêmes que celles provoquées par la lumière rouge clair. Cette affirmation repose sur le fait que des éclairages de courte durée de lumière rouge sombre n'anihilent pas la stimulation provoquée par l'acide gibbérellique. Cet argument ne nous semble pas valable car la lumière rouge sombre n'intervient dans la photostimulation qu'en transformant le phytochrome en sa forme inactive. D'ailleurs, BORTHWICK et ses collaborateurs, FUJII, ISIKAWA et NAKAWARA (30) montrent que l'acide gibbérellique doit provoquer les mêmes réactions que la lumière rouge clair.

— *interaction avec la température*. L'acide gibbérellique provoque la germination à l'obscurité à des températures qui sont normalement défavorables à la germination.

C. — Conclusions.

Toutes les caractéristiques de la photostimulation ne sont pas encore nettement définies. Cependant, un certain nombre de faits sont démontrés :

- la germination dépend souvent de deux facteurs (lumière et température),

- une réaction à faible énergie contrôle la germination : la lumière rouge clair (660 m μ) la stimule ; la lumière rouge sombre (730 m μ) anihile réversiblement cet effet.

- certaines substances modifient la sensibilité des graines à la lumière. C'est le cas de la kinétine et de l'acide gibbérellique. D'autres substances (nitrates, thiourée) stimulent la germination sans que l'on connaisse vraiment leur mode d'action.

A côté de ces faits établis il reste beaucoup de points à élucider :

- quelle est la nature de l'inhibition déclanchée par des éclaircements continus ?

- quel est le rôle joué par les nitrates et la thiourée ?

- quelles sont les réactions métaboliques influencées par la lumière ?

II. - La Photoinhibition de la germination

Ce problème a fait l'objet de peu de recherches, d'ailleurs très fragmentaires ; de plus les résultats ne sont pas très concordants.

A. — Influence de la lumière.

La plupart des expériences portent sur la germination des graines de *Nemophila insignis* et de *Nigella sativa*. Tous les auteurs reconnaissent que la photoinhibition nécessite un éclaircissement continu et que la lumière rouge sombre est particulièrement active (4, 10, 46). Par contre les résultats concernant l'influence des autres régions de la lumière visible sont très discordants. Ainsi la lumière bleue n'a pas d'action (51) ou inhibe la germination (4, 46) ; de même, la lumière rouge clair stimule la germination selon ISIKAWA (51), l'inhibe d'après BLACK et WAREING (4) ou n'a aucune influence d'après BORTHWICK (46).

B. Modifications de l'action de la lumière.

La photoinhibition est d'origine tégumentaire : une ablation des téguments ou leur scarification mécanique, au niveau de la radicule, permet la germination à la lumière (22).

D'autre part, la lumière n'inhibe pas la germination de graines placées en atmosphère riche en oxygène (22).

C. — Conclusions.

L'évocation de résultats aussi disparates démontre qu'une étude complète de la question s'impose. Le spectre d'action de la lumière sur la germination des graines à photosensibilité négative n'est pas défini. Les différences entre le comportement des graines à photosensibilité négative et celles à photosensibilité positive restent à expliquer. La dernière hypothèse à ce sujet date de 1933. MAIER (68,69) écrivait alors que le spectre d'action de la lumière sur les deux types de germination est le même mais que les graines à photosensibilité positive sont très sensibles à la lumière rouge clair et peu sensibles à la lumière rouge sombre, alors que le phénomène inverse se produit chez les graines à photosensibilité négative. Nous verrons combien cette explication ne s'applique pas aux cas que nous avons étudiés.

DEUXIEME PARTIE

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

I. - Les semences étudiées

A. — Caractéristiques des semences.

Bidens radiata Thuill. est une Composée du groupe des Hélianthées, assez rare en France, et rencontrée principalement en automne sur les grèves des étangs. Les akènes ont, en moyenne, 6 mm. de long, 1,3mm de large et un poids de 0,5 mg. Ils sont constitués par un embryon droit entouré par les téguments et le péricarpe orné de petites dents. Le péricarpe et les téguments peuvent être ôtés séparément ce qui permet une étude des conditions de germination des akènes, des graines et des embryons.

Lythrum Salicaria L. est une plante herbacée appartenant à la famille des Lythracées. Très commun en France dans les marais herbeux et au bord des étangs, il est parfois cultivé comme plante mellifère. Le fruit, entouré par le calice persistant, est une capsule qui laisse échapper à sa partie supérieure de nombreuses petites graines de forme oblongue, de couleur jaune brun. Ces graines sans albumen, à embryon droit, possèdent des téguments durs : la plus grande dimension est de 0,9 mm et le poids de 0,07 mg. Ces graines, ainsi que les akènes de *Bidens radiata*, sont récoltées chaque année sur les grèves de l'étang de Saint-Quentin, près de Trappes (Seine et Oise).

Les *Phacelia*, originaires d'Amérique du Nord, appartiennent à la famille des Hydrophyllacées. Ils sont cultivés comme plantes ornementales et mellifères. Les graines, groupées par quatre dans le fruit, ont une forme allongée, l'extrémité radiculaire étant effilée. Les dimensions moyennes sont les suivantes : 3 mm de longueur

et 1,5 mm de largeur ; le poids est d'environ 1,8 mg. Ces graines sont entourées d'un tégument résistant, de teinte brunâtre, présentant de nombreuses rides.

Les graines de *Phacelia tanacetifolia* Benth., ainsi que celles de *Nemophila insignis* Nutt. (Hydrophyllacées), présentent à peu près les mêmes caractéristiques. Elles nous sont fournies chaque année par les Etablissements Clause.

B. — Méthode de conservation des semences.

Les semences sont conservées à l'obscurité, dans des flacons bouchés, à une température voisine de 15° C. La seule humidité atmosphérique peut entraîner des réactions qui modifient la vigueur des dormances. Or, les températures basses, inférieures à 10° C, ou tièdes, supérieures à 20° C modifient la photosensibilité des graines (22).

Notre choix s'est donc porté sur une température moyenne de 15° C pour la conservation des semences.

C. — Méthode de semis.

Les graines ou les fruits secs sont semés par lots de 100 qui constituent l'unité d'expérimentation. Les semences sont placées sur papier filtre, saturé d'eau ou de la solution à étudier, dans des boîtes de Petri de 45 mm de diamètre, transparentes ou peintes extérieurement en noir, selon les nécessités de l'expérience.

II. - Méthode d'étude de l'action de la lumière

L'étude de l'action de la lumière nécessite des étuves éclairées, réglées à température constante, des filtres interférentiels et un appareil de mesure du niveau énergétique de l'éclairement.

A. — Caractéristiques des étuves.

Les étuves sont éclairées par des systèmes dont la nature dépend de la qualité et du niveau de l'éclairement que l'on veut obtenir.

La source lumineuse est constituée par 8 tubes fluorescents « Mazda Blanc Soleil de Luxe TF 40 » pour l'analyse de l'action de la lumière bleue (Figure 4a).

Les éclairagements de lumière rouge sont réalisés grâce à l'emploi de lampes à incandescence de 100 Watts. Les éclairagements de bas niveaux énergétiques, sont obtenus avec des lampes de plus faibles puissances (15 et 25 W.).

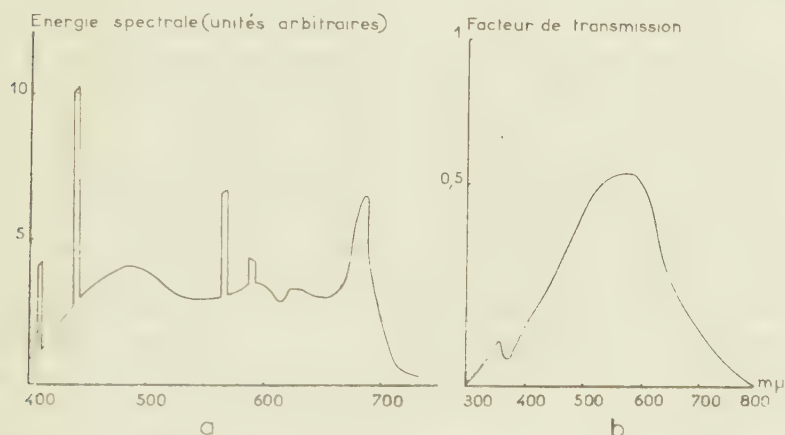


FIGURE 4. — a) Courbe spectrale d'une lampe TF 40 « Blanc Soleil de Luxe ».
b) Courbe de transmission d'un filtre « Athermic Saint-Gobain » (6 m/m).

La température de l'étuve est réglée à l'aide d'une résistance chauffante, d'un thermostat et d'un ventilateur aspirant. Le schéma de la figure 5 indique la disposition de l'ensemble des appareils.

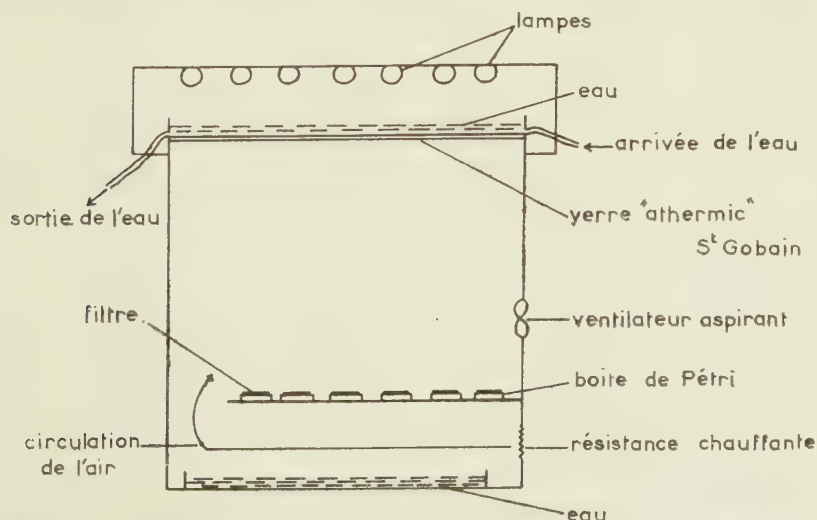


FIGURE 5. — Schéma représentant une étuve et la méthode d'éclairément des semences.

L'emploi des lampes à incandescence nécessite la mise en place d'un dispositif qui élimine l'infra-rouge. Une plaque de verre « Athermic Saint Gobain » est utilisée à cet effet : la figure 4b donne le spectre de transmission de ce verre. L'échauffement que les lampes pourraient produire est supprimé grâce à une circulation d'eau (figure 5).

Les étuves sont peintes en noir mat intérieurement, de façon à éliminer la présence de rayons réfléchis latéraux. En effet, lors de l'utilisation des filtres interférentiels, il est indispensable que la lumière arrive perpendiculairement à ceux-ci.

B. Caractéristiques des filtres interférentiels.

Les premières expériences, qui sont une approche du problème, sont réalisées avec des filtres interférentiels BALZERS « Filtraflex-K ». Il s'agit d'un jeu de sept filtres qui recouvrent l'ensemble du domaine spectral visible. Ce sont des filtres à couches multiples combinées avec des filtres en verre coloré. La limite de transmission maximum se situe aux environs de 75 %. La figure 6 représente le spectre de transmission de ces filtres.

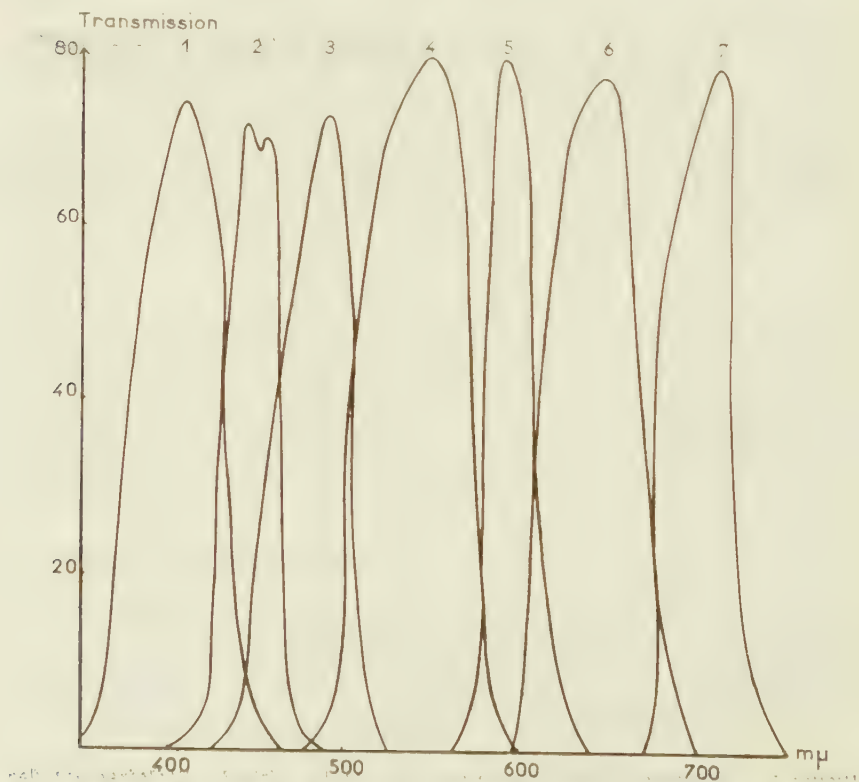


FIGURE 6. — Spectre de transmission des filtres « Filtraflex-K » (Balzers).

Pour la détermination du spectre d'action de la lumière des filtres interférentiels SEAVOM ou BALZERS sont utilisés. Ce sont des filtres à couche métallique du type FABRY-PERROT. Le maximum de transmission est voisin de 40 %, la largeur de la bande passante étant d'environ 120 mμ (Figure 7a) Le tableau II résume les caractéristiques de ces filtres qui ont d'ailleurs fait l'objet d'une vérification.

Pour la détermination de la relation qui existe entre la stimulation ou l'inhibition de la germination et l'éclairement, deux types de filtres sont employés : les uns transmettent la lumière de 630 à 680 mμ avec un maximum à 655 mμ, les autres de 700 et 750 mμ avec un maximum à 720 mμ.

TABLEAU II

Caractéristiques des filtres utilisés.

Longueur d'onde correspondant au maximum de transmission (en mμ)	Largeur de la bande passante (en mμ)	constructeur	référence
410	15	SEAVOM	316 A 7
436	12	—	317 A 7
448	15	—	317 C 7
462	12	—	317 D 7
477	14	—	317 D 7
500	15	—	318 C 7
508	12	—	318 C 7
520	13	—	319 C 7
540	14	—	522 B 7
567	13	—	322 B 7
575	12	—	319 C 7
600	10	—	21 A 3
613	15	—	272 C 8 (2)
640	12	—	324 D 7
660	12	—	324 C 7
676	12	BALZERS	12 B-40
690	12	SEAVOM	325 A 7
710	12	BALZERS	13 B-40
725	12	—	13 B-40
735	12	—	13 B-40
750	12	—	13 B-40

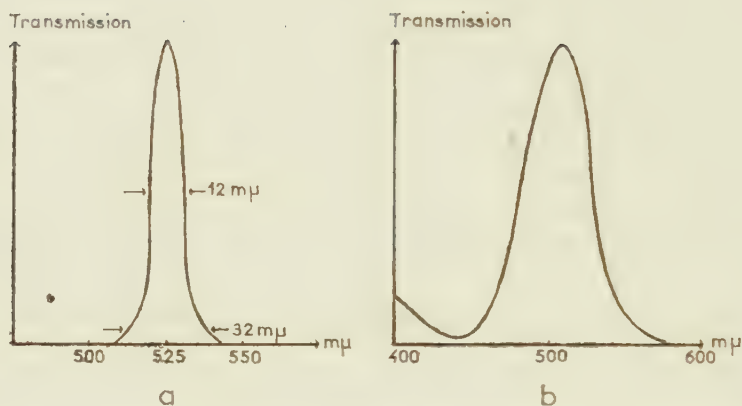


FIGURE 7. — a) Spectre de transmission d'un filtre type « FABRY-PERROT ».
 b) Spectre de la lumière utilisée pour le dénombrement des germinations.

C. — Mesure du niveau d'éclairement.

Les mesures sont réalisées à l'aide d'un radiamètre composé d'une thermopile JACOBSEN reliée à un galvanomètre SEFRAM gradué en mV. A 22,4 mV correspond 1 cal/cm²/min. Une table donne la correspondance entre les mV et les ergs/cm² sec. La sensibilité de la pile est de 5,16 ergs/cm²/sec.

Pour simplifier les unités, l'éclairement est exprimé en μ w/cm². Ces mesures permettent de déterminer le rapport qui existe entre la photoinhibition ou la photostimulation, et le niveau d'éclairement. Elles sont indispensables pour préciser le spectre d'action isoquantique de la lumière. On utilise pour cette étude une série de filtres interférentiels qui transmettent une zone bien déterminée de la lumière visible et on règle l'intensité de la source pour que

le rapport
$$\frac{\text{éclairement transmis par le filtre}}{\text{longueur. d'onde}}$$
 reste constant.

L'intensité lumineuse des lampes n'est pas toujours constante : elle diminue après un certain nombre d'heures d'utilisation. Pour éliminer toute erreur provenant de ce fait, nous avons procédé à une mesure de l'éclairement après chaque expérience.

III. - Interprétation des résultats

A. — Dénombrement des germinations.

Les graines germées, c'est-à-dire celles dont la radicule a percé les téguments, sont comptées chaque jour. Cette opération a lieu à la lumière provenant d'un tube fluorescent PHILIPS de 40 watts recouvert d'un papier de cellophane vert « Rhodoid 216 Rhône Poulenc ». La Figure 7b représente le spectre de cette lumière qui est sans action sur la germination des graines.

B. — Etude statistique des résultats.

La germination est un phénomène qui est à rattacher à la loi du « tout ou rien » : la graine germe ou ne germe pas. Cependant les calculs statistiques portant sur des distributions discontinues sont compliqués et peu aisés à manier. Aussi essaye-t-on, par divers artifices, de ramener à une distribution normale. Dès le début, un premier postulat est posé : l'unité, dans nos calculs, ne sera pas représentée par une graine mais par un lot de 100 graines. Ainsi l'augmentation du pourcentage de germination sera analysée de la même manière qu'une augmentation de l'élongation d'entre-nœuds. Il reste à prouver que la germination de lots de 100 graines peut être assimilée à la loi de Laplace-Gauss.

Les graines de *Phacelia tanacetifolia* sont utilisées pour illustrer un raisonnement qui est à peu près le même pour les autres graines.

I. — GERMINATION A L'OBSCURITÉ. Normalement 90 % des graines germent à l'obscurité à 22° C. Ainsi la population de *Phacelia* est constituée, en grande majorité, par des graines qui germent à l'obscurité à 22° C, mais aussi par quelques unes qui ne germent pas dans ces conditions. Ces graines, qui ne sont pas mortes, possèdent une dormance particulière. Si un nombre X de lots de 100 graines est extrait de la population, il faut montrer que les graines qui présentent une dormance spécifique sont distribuées au hasard.

Soient 20 lots de 100 graines mises à germer à l'obscurité à 22° C, les résultats suivants sont obtenus :

86 ; 89 ; 89 ; 92 ; 94 ; 86 ; 91 ; 90 ; 93 ; 95 ;
92 ; 94 ; 86 ; 91 ; 96 ; 92 ; 90 ; 89 ; 86 ; 96.

L'utilisation de la méthode graphique statistique pourra peut-être permettre de montrer que la distribution est normale. Les résultats des calculs sont résumés dans le Tableau III.

TABLEAU III

Calculs concernant la méthode graphique statistique.

x	fréquence cumulée en %	X	X
86	20	— 1,28	+ 3,72
89	35	— 0,38	+ 4,62
90	45	— 0,12	+ 4,88
91	55	+ 0,12	+ 5,12
92	70	+ 0,52	+ 5,52
93	75	+ 0,67	+ 5,67
94	85	+ 1,03	+ 6,03
95	90	+ 1,28	+ 6,28
96	100		

La méthode graphique d'analyse statistique se fonde sur le fait que la courbe normale réduite $X = \frac{x - \mu}{\sigma}$ (μ = moyenne de la

population d'où est tiré l'échantillon ; σ = écart-type) est la même pour toutes les distributions normales. Donc la courbe normale réduite est indépendante de μ et de σ . Il existe une relation linéaire entre x et X .

Soit notre exemple. Les résultats obtenus sont rangés par ordre (Tableau III, colonne 1). Les fréquences cumulées en pourcentage sont calculées (Tableau III, colonne 2). Grâce à la table des aires de la courbe normale réduite, la valeur théorique de X correspondant à chaque fréquence cumulée est obtenue. Ces valeurs sont soit positives soit négatives (Tableau III, colonne 3). Pour obtenir uniquement des chiffres positifs + 5 est ajouté à chaque valeur de X . Les valeurs $X' = X + 5$, sont appelées probits des fréquences cumulées correspondantes observées (Tableau III, colonne 4). La courbe est obtenue en portant X' en abscisse et x en

ordonnée. La figure 8 montre que les différents points sont bien alignés : la distribution est donc normale.

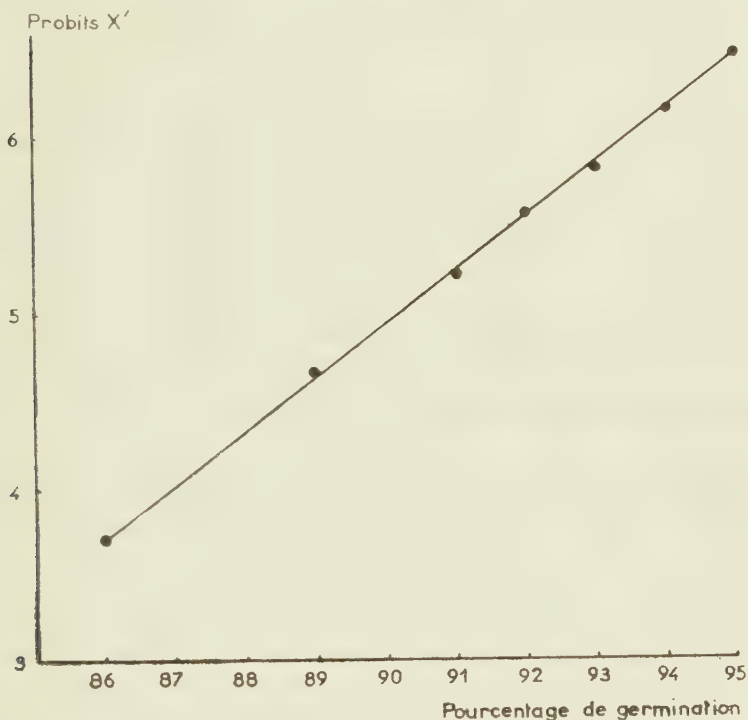


FIGURE 8. — Relation entre probits X' et x .

2. — GERMINATION A LA LUMIÈRE. Les graines présentent des différences dans leur sensibilité à la lumière. Une deuxième analyse est donc nécessaire pour observer si l'intervention du facteur lumière ne modifie pas la normalité de la distribution.

— *analyse graphique statistique.* 50 lots de 100 graines exposées à un éclairage identique sont mis à germer. Les résultats sont les suivants, les chiffres entre parenthèses représentant les fréquences observées :

50 % (1) ; 51 % (4) ; 52 % (7) ; 53 % (7) ; 54 % (8) ; 55 % (6) ; 56 % (7) ; 58 % (3) ; 59 % (1).

Le tableau IV et la figure 9 illustrent les résultats de l'analyse statistique.

TABLEAU IV

Résultats de l'analyse statistique.

x	fréquence cumulée en %	X	X'
50	2	— 2,05	+ 2,95
51	10	— 1,28	+ 3,72
52	24	— 0,70	+ 4,30
53	38	— 0,30	+ 4,70
54	54	+ 0,10	+ 5,10
55	66	+ 0,41	+ 5,41
56	80	+ 0,84	+ 5,84
57	90	+ 1,38	+ 6,38
58	96	+ 1,85	+ 6,85
59	100		

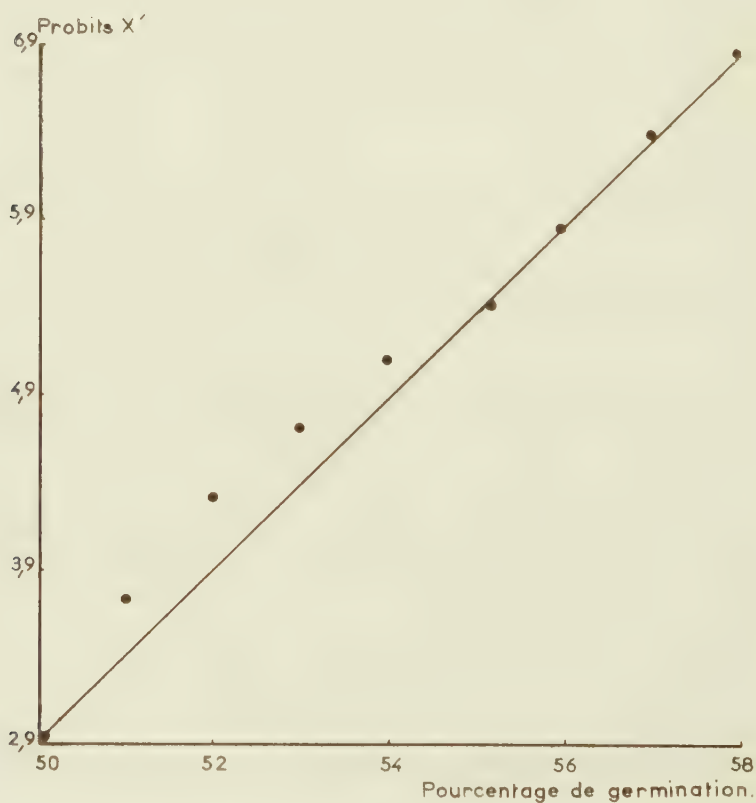


FIGURE 9. — Relation entre X' et x .

Ces résultats ne sont pas assez précis pour autoriser l'utilisation des lois de la distribution normale. Il existe une méthode plus rigoureuse pour déterminer si les différences entre fréquences observées et fréquences calculées sont imputables ou non au hasard de l'échantillonnage.

Il s'agit du test X^2 de PEARSON.

Test X^2 :

$$\chi^2 = \frac{(o - c)^2}{c} ; o = \text{fréquence observée} ; c = \text{fréquence calculée.}$$

Le calcul du X^2 ne peut être effectué qu'aux conditions suivantes : a) au moins 50 observations ; b) observations groupées en 4 classes.

La valeur du X^2 observé (χ^2_o) est comparée avec celle du X^2 théorique correspondant au niveau de signification choisi (0,05 ou 0,01). Si χ^2_o est inférieur à $\chi^2_{0,05}$, cela voudra dire qu'il y a moins de 5 chances sur 100 pour que les variations soient imputables au hasard.

— calcul des fréquences théoriques. Pour calculer les fréquences théoriques on n'utilise pas l'équation de la distribution théorique mais on divise l'échelle de probabilité en intervalles égaux. Ici ce sera 0,2. La somme des fréquences théoriques sera dans chaque intervalle : $f = 0,2 \times n$ (nombre d'observations) = $0,2 \times 50 = 10$. La table de probabilités en fonction de χ (loi de GAUSS réduite) donne les valeurs des limites des intervalles :

$$\begin{array}{cccc} \text{probabilités :} & 0,2 & 0,4 & 0,6 & 0,8 \\ & - 0,842 & - 0,253 & + 0,253 & + 0,842 \end{array}$$

— détermination de l'écart-type. Les calculs sont les suivants :
moyenne $\bar{x} = 54,5$.

x	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$	f	$f (x - \bar{x})^2$
50	— 4,5	20,25	1	20,25
51	— 3,5	12,25	4	49
52	— 2,5	6,25	7	43,75
53	— 1,5	2,25	7	15,75
54	— 0,5	0,25	8	2,00
55	+ 0,5	0,25	6	1,50
56	+ 1,5	2,25	7	15,75
57	+ 2,5	6,25	5	31,25
58	+ 3,5	12,25	3	36,75
59	+ 4,5	20,25	2	50,50

$$S (x - \bar{x})^2 = 266,50$$

$$\text{Variance } S^2 = \frac{266,50}{49} = 5,44$$

$$\text{écart-type } \sigma = \sqrt{5,44} = 2,33$$

— détermination des fréquences observées.

limites des intervalles de probabilité	fréquences observées
54,5 — (2,33 × 0,842) = 52,56	12
54,5 — (2,33 × 0,253) = 53,96	7
54,5 + (2,33 × 0,253) = 55,04	14
	7
54,5 + (2,33 × 0,842) = 56,44	10

— calcul du χ^2_0

fréquences observées	fréquences théoriques	$o - c$	$\frac{(o-c)^2}{c}$
(o)	(c)		
12	10	2	4/10
7	10	3	9/10
14	10	4	16/10
7	10	3	9/10
10	10	0	0/10

$$\chi^2_0 = 3,60$$

— détermination du χ^2 théorique. Pour lire sur la table la valeur du χ^2 réel il faut déterminer le nombre de degrés de liberté (D.L.).

nombre de classes	5
nombre de relations	3
<u>D.L.</u>	<u>2</u>

Ceci donne un χ^2 théorique de 9,210 pour $P = 0,01$. χ^2_0 est donc inférieur à χ^2 , par conséquent les résultats de ce test ne s'opposent pas à l'utilisation des calculs statistiques se fondant sur la loi de LAPLACE-GAUSS.

3. — COMPARAISON DE DEUX SÉRIES DE MOYENNES. Soit à comparer deux séries de moyennes correspondant à des graines germant dans des conditions différant par l'éclairement ou par la température ou encore par la concentration du milieu de germination en une substance déterminée. Le test « t » est alors utilisé.

1° exemple : germination en lumière rouge sombre à 22° C. Les graines sont bannidifiées par l'eau (condition A) ou par une solution d'acide gibbércllique à 1×10^{-4} (condition B). Les pourcentage de germination obtenus sont les suivants :

condition A		condition B	
21	26	19	24
23	16	23	26
27	25	24	23
17	22	21	20
16	17	24	19
26	21	26	23
25	27	23	25
22	23	22	24
21	23	23	22
23	21	24	23
Sx = 442		Sx = 458	
n = 20		n = 20	
$\bar{x} = 22,10$		$\bar{x} = 23,20$	
S (x - $\bar{x}$) ² = 90,89		S (x - $\bar{x}$) ² = 40,80	
S ² = 4,54		S ² = 2,04	
d = $\bar{x}_A - \bar{x}_B = 23,20 - 22,10 = 1,10$			
S (x _A - $\bar{x}_A$) + S (x _B - $\bar{x}_B$)		90,89 + 40,80	
S ² = $\frac{\quad}{n_A + n_B + 2}$		= $\frac{\quad}{38} = 3,47$	
S ² (n _A + n _B)		40	
S _d ² = $\frac{\quad}{n_A \times n_B}$		= 3,47 × $\frac{\quad}{400} = 0,347$	
Sd = 0,59			
t _d = $\frac{d}{S_d} = \frac{1,10}{0,59} = 1,86$			

$t_{0,01}$ pour un degré de liberté de 38 est égal à 2,71. On peut donc conclure que ces résultats ne sont pas incompatibles avec le hasard d'échantillonnage. Par conséquent l'acide gibbércllique, en solution à 1×10^{-4} n'a pas d'action significative.

— 2° exemple : germination en lumière rouge sombre à 22° C. Action combinée de l'acide gibbércllique (10^{-4}) et de l'acide indolylacétique (10^{-4}).

acide gibbérellique (10 ⁴)		acide gibbérellique (10 ⁴) + acide indolylacétique (10 ⁴)	
19	24	25	24
23	23	28	31
25	26	29	25
20	20	29	28
24	19	30	29
24	23	27	22
26	25	24	29
23	24	22	22
22	22	22	24
23	23	27	27

$$S_x = 458$$

$$n = 20$$

$$\bar{x} = 23,20$$

$$S(x - \bar{x})^2 = 40,80$$

$$d = \bar{x}_B - \bar{x}_C = 26,30 - 23,20 = 3,10$$

$$S^2 = \frac{40,80 + 156}{38} = 5,18$$

$$S_d^2 = 0,518$$

$$S_d = 0,72$$

$$3,10$$

$$t_d = \frac{3,10}{0,72} = 4,30$$

$t_{0,05}$ pour un degré de liberté de 38, est égal à 2,025 : t_d est donc supérieur à $t_{0,05}$ par conséquent les différences observées sont significatives.

C. — Expressions des résultats.

Les résultats sont exprimés soit par le pourcentage de germination obtenu soit par des rapports ainsi définis :

1. — PHOTOINHIBITION (Pi). Le rapport $1 - \frac{\text{pourcentage de germination à la lumière}}{\text{pourcentage de germination à l'obscurité}}$ reflète exactement l'intensité de la photoinhibition. Il est désigné en abrégé par les lettres Pi. Il peut

être calculé à la fin de l'expérience (Pit), c'est à dire généralement 48 heures après le début de l'humidification, ou encore à la moitié du temps nécessaire pour obtenir le maximum de germination (Pi₂), c'est à dire à la 24^{me} heure.

2. — **POUVOIR DE RÉVERSIBILITÉ DE LA LUMIÈRE ROUGE SOMBRE (P. R.).** Dans certains cas, la lumière rouge sombre peut anihiler la stimulation de la germination provoquée par la lumière rouge clair. Ce pouvoir de réversibilité est défini par le rapport :

$$P.R. = 1 - \frac{\% \text{ de germination après éclaircissement rouge sombre}}{\% \text{ de germination après éclaircissement rouge clair}}$$

3. — **VALEURS DÉFINISSANT L'INFLUENCE D'UNE LUMIÈRE.** Pour chaque lumière étudiée trois valeurs sont déterminées : elles sont exprimées en $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

E₀ = éclaircissement nécessaire pour provoquer une inhibition ou une stimulation statistiquement valable.

E₅₀ = éclaircissement nécessaire pour diminuer de moitié le pourcentage de germination (Pit = 0,50) ou pour provoquer la germination de 50 % des graines.

E_m = éclaircissement qui inhibe ou stimule au maximum la germination.

A ces techniques qui concernent strictement l'influence de la lumière sur la germination, il s'en ajoute d'autres qui permettent d'observer certains aspects du métabolisme et de la croissance des embryons.

IV. - Autres techniques utilisées

A. — Mesure de l'hydratation des graines.

100 mg de graines « sèches » sont semées sur papier filtre humide. Au bout d'un temps variable les graines sont séchées superficiellement et pesées. Le poids de matière sèche des graines restant constant au cours de la germination, l'augmentation de poids reflète l'état d'hydratation des graines.

B. — Etude de l'intensité respiratoire.

Les mesures sont réalisées grâce à la méthode manométrique

de Warburg. Les fioles ont un volume d'environ 14 ml. On place dans chacune d'elles 300 graines ou akènes et 1 cm³ d'eau, et dans la cupule centrale 0,2 cm³ d'une solution de potasse à 15 %. Les résultats sont exprimés en mm³ d'oxygène absorbé/heure/gramme de semences.

C — Etude histologique.

Il peut être intéressant de connaître le mode de croissance de la radicule ou cours de la germination. La mise en évidence de la mérisis est faite selon deux méthodes :

1°) Les embryons sont fixés par le réactif de HELLY puis sont inclus dans la paraffine. Des coupes minces (2 μ) sont alors pratiquées. La méthode de FEULGEN est utilisée pour la coloration des noyaux.

2°) Les embryons sont plongés dans une solution de carmin acétique bouillant, puis sont placés entre lame et lamelle et observés au microscope.

D. Etude des substances de croissance contenues dans les semences.

Les résultats obtenus lors de l'analyse des conditions de germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* nécessitent l'étude de l'évolution des substances de croissance présentes dans ces graines et des essais d'identification de ces substances.

1. — EXTRACTION DES SUBSTANCES DE CROISSANCE.

Les graines sont lyophilisées et réduites en poudre. Les substances sont extraites à partir de 10 g de poudre par du méthanol pur pendant 4 jours à - 20° C. L'extrait obtenu est filtré et concentré à 5 cm³.

2. — CHROMATOGRAPHIE. 0,5 cm³ de l'extrait est déposé sur une feuille de papier WHATMAN n° 3. Le papier est suspendu dans une cuve à chromatographie au fond de laquelle est déposé un peu du solvant utilisé : isopropanol (100), ammoniacque (10), eau (10), ceci afin de permettre l'équilibre. Au bout de 2 heures le solvant est placé dans l'augette. La chromatographie, réalisée à 25° C est terminée lorsque le front du solvant a atteint 40 cm. Le chromatogramme est enlevé et séché. Il est alors découpé en bandes de 2 cm de large. Cette bande est elle-même divisée en carrés de 2 cm de côté. Chaque carré est utilisé pour l'essai biologique.

3. — **ESSAI BIOLOGIQUE.** Le test employé est celui de l'élongation rectiligne des coléoptiles d'Avoine var. « Victoire ». Les graines sont mises à tremper 3 heures dans l'eau puis sont disposées sur du papier filtre humide dans un récipient profond. L'ensemble est placé dans une chambre à température constante (25° C) sous lumière rouge. 72 heures après, des sections de 5 mm sont découpées à 3 mm en dessous du sommet. 10 de ces segments sont placés dans un tube en verre contenant 2 cm³ d'une solution de saccharose à 2 % dans un tampon phosphate de pH 4,5 et un des carrés du chromatogramme. Les tubes sont fixés sur une roue tournant d'un mouvement uniforme. 20 heures après, la longueur des sections est déterminée au moyen d'un agrandisseur photographique.

4. — **EXPRESSION DES RESULTATS.** Un histogramme est établi à partir des résultats obtenus. Il s'agit d'un diagramme représentant l'extension, en pourcentage par rapport au témoin, des sections en fonction de la distance à la ligne de départ (Rf).

5. — **PURIFICATION DES EXTRAITS.** Dans certains cas une purification des extraits est nécessaire. Elle consiste en une séparation en fraction acide et en fraction neutre par la méthode au bicarbonate. L'extrait est agité dans une ampoule à décanter avec une solution de bicarbonate de sodium à 5 %. Cette opération est répétée trois fois. Les composés acides passent dans la solution bicarbonatée. Celle-ci est acidifiée à pH 3 avec une solution d'acide phosphorique à 10 %. Les substances acides sont extraites par l'éther.

La chromatographie de la fraction neutre nécessite l'élimination des lipides et d'une grande partie des pigments liposolubles. La méthode de JONES et RIDDICK est utilisée à cet effet (54).

6. — **MISE EN ÉVIDENCE DES COMPOSÉS INDOLIQUES SUR LA CHROMATOGRAPHIE.** Les réactifs d'ERLICH et SALKOWSKI donnent des réactions colorées caractéristiques avec les composés à noyau indolique.

7. — **SPECTRE D'ABSORPTION EN ULTRA VIOLET.** Le fait qu'une substance à fonction acide présente une coloration caractéristique avec les réactifs d'ERLICH et de SALKOWSKI et possède le même Rf que l'acide indolylacétique, ne permet pas de conclure que la substance est certainement de l'acide indolylacétique.

Il est nécessaire d'établir le spectre d'absorption en ultra violet. Pour cela il faut réaliser plusieurs chromatographies. Dans ce cas le deuxième solvant utilisé est le suivant : isobutanol (80) + méthanol (5) + eau (15).

E. — Etude de l'influence de l'oxygène sur la germination.

Les mélanges gazeux, plus ou moins riches en oxygène, sont préparés par la méthode dite du « déplacement ». Si l'on veut par exemple préparer 100 ml d'un mélange gazeux contenant 75 %, d'oxygène on procédera de la manière suivante : un récipient est complètement rempli d'eau ; de l'azote pur est utilisé pour déplacer 25 ml d'eau ; 75 ml d'eau sont remplacés par de l'oxygène pur.

F. — Etude des pigments présents dans les semences.

Les pigments sont extraits, à froid, à partir de 100 grammes de semences par de l'éther déperoxydé.

L'extrait éthéré est évaporé à sec, sous vide, à température inférieure à 40° C. Les pigments sont repris par l'hexane et séparés par chromatographie sur une colonne de poudre de cellulose (hauteur 30 cm, diamètre 4 cm) à la température de 20° C. à l'obscurité. Les pigments sont élués par l'hexane puis par un mélange hexane et acétone.

TROISIEME PARTIE

LA PHOTOINHIBITION DE LA GERMINATION

I. — La photoinhibition de la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*

A. — Conditions d'étude de la photoinhibition.

Cette étude ne peut se réaliser que dans des conditions strictes qui sont déterminées par l'état de la graine (facteurs internes) et par les facteurs externes.

1. — FACTEURS INTERNES.

a. — *maturité de la graine.* — Lorsque les graines sont récoltées, à l'état mûr, dans les capsules, la photoinhibition est aisée à mettre en évidence. Il n'en est pas de même lorsque les graines sont récoltées avant leur maturité. Elles présentent alors des téguments lisses et blancs et germent très rapidement aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité.

b. — *âge de la graine.* — Le comportement d'un même lot de graines est étudié dans les deux années qui suivent leur récolte. Le Tableau V indique les pourcentages de germination obtenus, à la lumière et à l'obscurité, de graines de *Phacelia tanacetifolia* récoltées en octobre 1955.

TABEAU V

Evolution du pourcentage de germination des graines* de *Phacelia tanacetifolia*, à la lumière** et à l'obscurité, au cours de leur conservation.

Date des essais***	Nov. 1955	Déc. 1955	Janv. 1956	Mars 1956	Juin 1956	Juil. 1956	Sept. 1956	Nov. 1956	Févr. 1957	Oct. 1957
% de germ. lumière	2	4	4	7	9	7	10	10	10	10
% de germ. obscurité	8	40	82	85	84	66	85	85	70	89

* température de l'expérience : 22° C ; ** lumière blanche (400-750 mμ) : 500 μw/cm² ; *** récolte d'Octobre 1955.

Pendant les deux premiers mois qui suivent la récolte, les graines ne germent ni à la lumière ni à l'obscurité. Cette incapacité totale de germer à l'obscurité disparaît avec la conservation au sec d'où le nom de dormance « Xérolabile ». Les embryons extraits de ces graines présentent une germination normale à l'obscurité à 22° C. Ceci démontre l'origine tégumentaire de cette dormance. Des extraits aqueux des téguments inhibent la germination des graines de Tomate et de Laitue. La pression osmotique des solutions n'étant pas la cause de l'inhibition (1,3 atmosphère) il est possible que les téguments contiennent un inhibiteur hydrosoluble qui s'altère au cours de la conservation.

2. — FACTEURS EXTERNES.

La présence d'eau et d'oxygène est indispensable à la germination mais le facteur dont l'influence doit être déterminée avec le plus d'attention est la température.

a. — *influence de la température.* — Elle peut agir de différentes façons sur la germination :

- action directe sur le métabolisme,
- action sur la levée de certaines dormances,
- action sur l'entrée en dormance (thermodormance).

Le pourcentage de germination est déterminé pour des températures comprises entre 1 et 40° C. Les résultats sont groupés dans le tableau VI.

TABLEAU VI

Influence de la température sur la germination, à l'obscurité, des graines de *Phacelia tanacetifolia*.

température en ° C.	1	4	8	12	16	20	22	25	27	30	35	40
% de germination	90	90	92	88	93	90	85	48	28	10	0	0

Cette expérience montre que le pourcentage de germination est le même pour des températures comprises entre 1 et 22° C ; par contre, au-dessus de 22° C, l'augmentation de la température détermine une « thermodormance » induite.

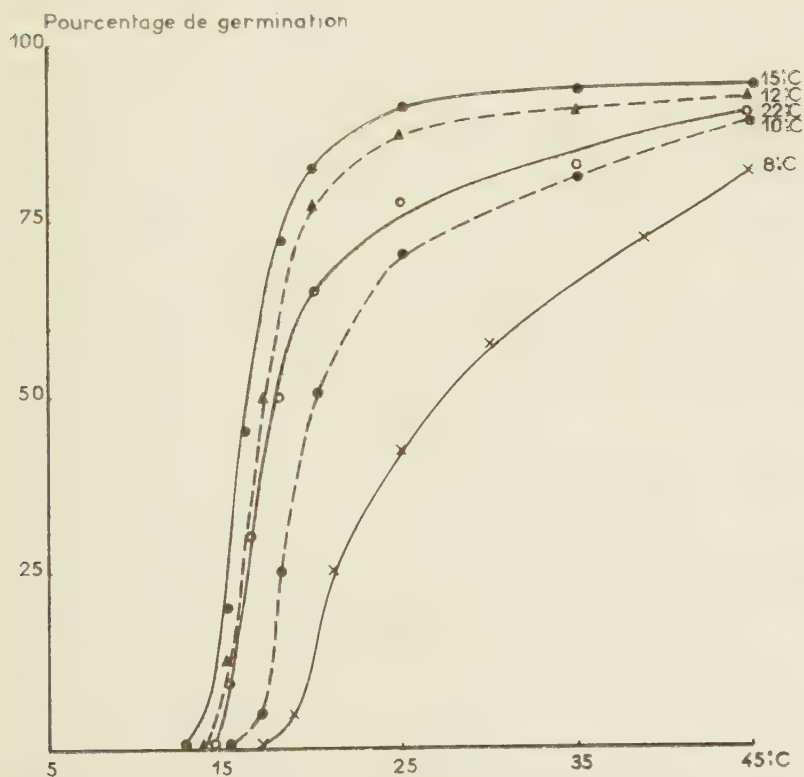


FIGURE 10. — Influence de la température sur l'accroissement du taux de germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*.

L'étude comparative des courbes de germination, à des températures comprises entre 1 et 22° C., montre que la vitesse d'accroissement du taux de germination est influencée par la température (Figure 10). La température optimale pour la vitesse de germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* est de 15° C. En effet, à cette température correspond le minimum d'heures nécessaires pour obtenir 50 % de germination (Figure 11).

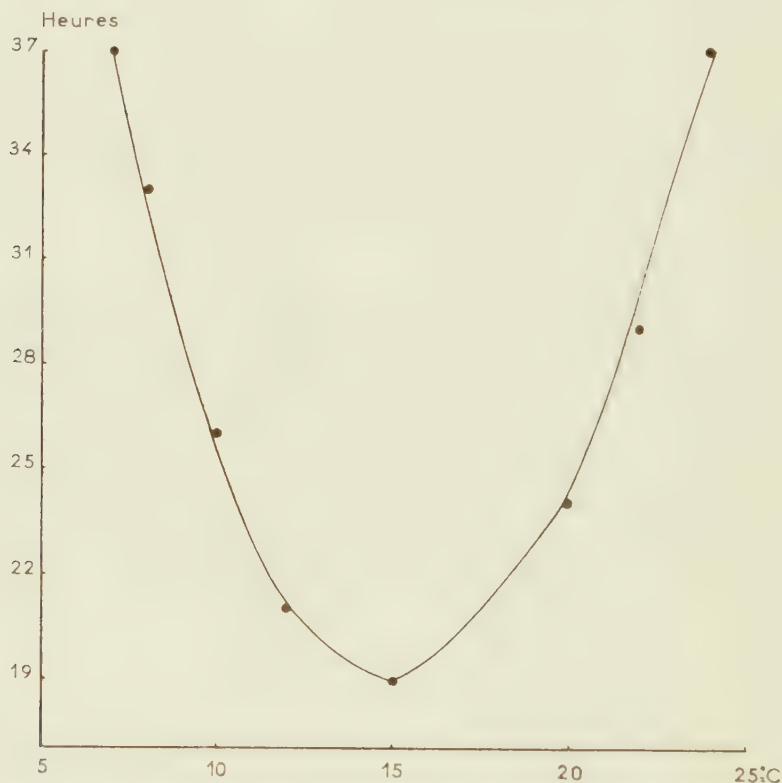


FIGURE 11. — Nombre d'heures nécessaires pour obtenir 50 % de germination, en fonction de la température.

b. — *Influence des saisons.* — La température et l'humidité étant constantes, la vitesse d'accroissement du taux de germination de lots de 100 graines varie suivant les saisons et présente deux maxima, l'un au printemps, l'autre à l'automne (Tableau VII).

TABLEAU VII

Influence des saisons sur la vitesse d'accroissement du taux de germination* des graines de *Phacelia tanacetifolia***, à l'obscurité.

Date de l'expérience	Janvier	Avril	Juillet	Octobre
% de germination	75	89	55	90
nombre d'heures pour obtenir le maximum de germination dans les conditions indiquées	52	48	66	48

* température de l'expérience : 22° C ; ** récolte d'octobre 1958.

3. — CONCLUSIONS.

Grâce à ses premières expériences il est possible de préciser les conditions nécessaires à l'obtention de résultats homogènes :
— les graines doivent être récoltées mûres de façon à présenter une sensibilité nette à la lumière.

— les graines doivent avoir été conservées au moins deux mois après leur récolte, ce qui permet l'élimination d'une dormance de type xérolabile qui masque la photoinhibition de la germination. En effet, pendant cette période, les graines sont incapables de germer quelles que soient les conditions.

— la température de germination doit être voisine de 15° C, mais il sera cependant nécessaire, pour certaines expériences, de la faire varier pour étudier la cinétique de l'inhibition.

Pour comparer l'action de lumières de différentes longueurs d'onde il peut être nécessaire de localiser leur action dans le temps au cours de la germination. Celle-ci comporte plusieurs phases.

B. — Détermination des phases de la germination.

La séparation de la germination en phases est essentiellement fondée sur l'étude de l'évolution du taux d'hydratation des graines et sur l'analyse des variations de l'intensité respiratoire. Des observations cytologiques complètent ces expériences.

1. — HYDRATATION DES GRAINES.

L'évolution du taux d'hydratation des graines est déterminée à différentes températures, à partir du début de l'humidification.

— pendant les dix premières minutes l'hydratation des graines est la même quelle que soit la température.

Les résultats obtenus (tableau VIII) montrent que :

— après la dixième minute la température a une grande influence. Entre la première et la deuxième heure une augmentation de 10° C. double la vitesse d'hydratation.

— à 22° C., 2 h 30 après le début de l'humidification, l'hydratation des graines est terminée.

TABLEAU VIII

Evolution du taux d'hydratation des graines de *Phacelia tanacetifolia* en fonction du temps et de la température.

temps en minutes		5	10	20	30	45	60	90	120	150	180	210
augmentation	22°C	15	23	35	42	55	70	77	82	85	85	85
du poids des	15°C	15	22	32	37	47	52	65	70	75	80	85
graines en %	12°C	14	24	28	32	37	42	50	56	60	65	70

2. — INTENSITÉ RESPIRATOIRE DES GRAINES.

L'évolution de l'intensité respiratoire est suivie pendant toute la période de germination. La courbe de la figure 12 permet de distinguer trois stades successifs :

— pendant les deux premières heures l'absorption d'oxygène augmente rapidement : ce stade correspond à l'hydratation des graines.

— de la deuxième à la huitième heure, l'intensité respiratoire demeure constante.

— à partir de la huitième heure elle augmente faiblement au début, puis d'une manière beaucoup plus prononcée à partir de la douzième heure.

3. — OBSERVATIONS CYTOLOGIQUES.

Il ressort de ces observations qu'aucune multiplication cellulaire ne se produit dans la radicule pendant la germination. Les premières divisions cellulaires apparaissent alors que la radicule a déjà 1 à 2 mm de long.

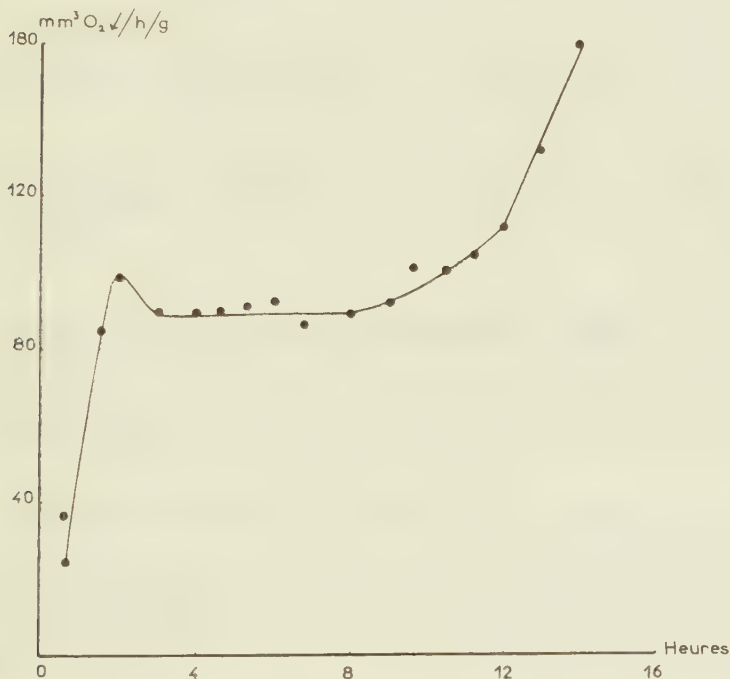


FIGURE 12. — Evolution de l'intensité respiratoire des graines de *Phacelia tanacetifolia*, en fonction du temps.

4. — ACTION DE L'HYDRAZIDE MALÉIQUE.

L'hydrazide maléique est une substance inhibitrice de la multiplication cellulaire. Or la germination et le début de la croissance de la radicule ne sont pas inhibées par des solutions d'hydrazide maléique de concentration variant entre 10^{-4} et 10^{-2} M. L'inhibition se produit uniquement sur des racines dont la longueur atteint 1 à 2 mm.

5. — CONCLUSIONS.

Ces expériences permettent de diviser la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* en trois phases :

a) *la phase d'hydratation* : celle-ci dure environ 2 h 30. Elle est caractérisée par une augmentation du poids des graines. Pendant le même temps l'intensité respiratoire s'élève.

b) *la phase prégerminative*. Elle se déroule entre la troisième heure et la huitième heure. Durant cette phase l'intensité respiratoire reste constante.

c) *la phase germinative*. Elle est marquée par une nouvelle augmentation de l'intensité respiratoire et par l'élongation des cellules de la radicule.

C. — Action quantitative et qualitative de la lumière.

Cette étude comporte plusieurs parties. Après une analyse de l'influence de la lumière blanche, spectre d'action sera déterminé.

1. — INFLUENCE DE LA LUMIERE BLANCHE (400-760 mμ).

Le fait que la lumière blanche, provenant de diverses origines (soleil, lampes à incandescence, lampes fluorescentes), inhibe la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* est connu depuis 1904. Nos expériences ont pour but de préciser l'action de la lumière.

Une source de lumière constituée par huit tubes fluorescents MAZDA « blanc soleil de luxe » est utilisée. L'éclairement mesuré au niveau des graines est de 500 μw/cm².

a) *influence d'expositions plus ou moins longues à la lumière.*

Les graines semées sur papier filtre humide, sont exposées à la lumière pendant des temps variant entre 1 heure et 7 jours et enfin transférées à l'obscurité. La température de l'expérience est de 22°C. Les résultats sont exprimés dans le tableau IX et traduits par la figure 13.

TABLEAU IX

Valeur de la photoinhibition en fonction de la durée d'exposition à la lumière.

heures d'exposition à la lumière	Pit	heures d'exposition à la lumière	Pit
1	0	72	0,68
6	0	84	0,82
12	0	96	0,84
24	0,22	120	0,87
36	0,37	144	0,86
48	0,50	168	0,88
60	0,63		

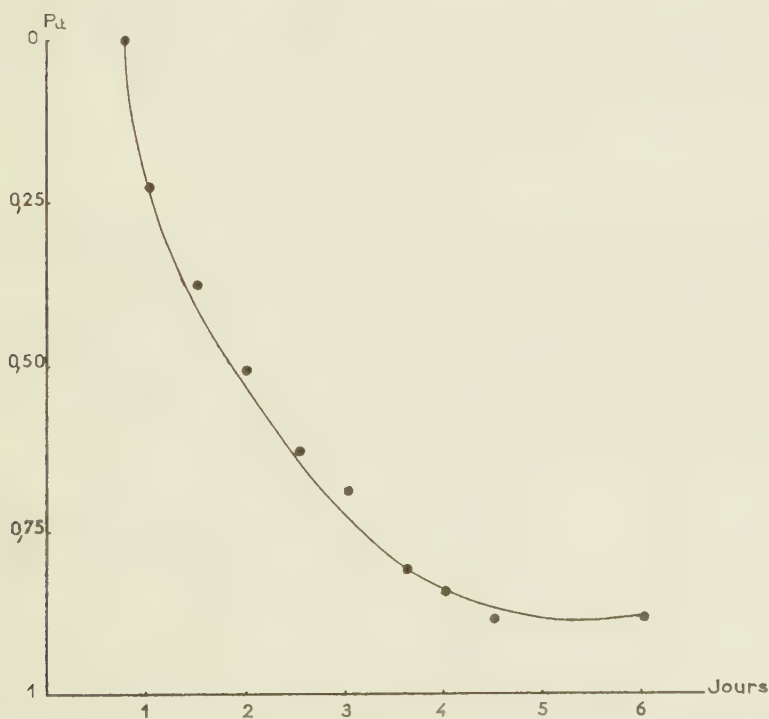


FIGURE 13. — Influence de la durée d'exposition à la lumière blanche sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*.
Pit = valeur de la photoinhibition en fin d'expérience.

L'inhibition de la germination nécessite des éclairagements prolongés. Après une exposition de 48 heures à la lumière 50 % des graines germent encore.

b) *influence du niveau d'éclairement.* — Dans une première série d'expériences les graines sont exposées à un éclairage continu (8 jours) compris entre 1×10^2 et $9 \times 10^2 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. Le tableau X présente les résultats.

La figure 14 montre que la photoinhibition est une fonction linéaire du niveau d'éclairement pour des valeurs comprises entre 1×10^2 et $5 \times 10^2 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. Le niveau d'éclairement nécessaire pour réduire la germination de 50% est de $3,5 \times 10^2 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. Au delà de $5 \times 10^2 \mu\text{w}/\text{cm}^2$, une augmentation de l'éclairement ne modifie pas la photoinhibition. Dans tous les cas 25% des graines germent.

c) *spectre d'action de la lumière.* — Des expériences préliminaires, réalisées avec les filtres BALZERS « filtraflex K » montrent que la lumière de longueur d'onde supérieure à 600 mμ et inférieure à 510 mμ inhibe la germination ; par contre, la lumière de longueur d'onde comprise entre 510 mμ et 600 mμ n'a aucune influence sur la germination.

TABLEAU X

Inhibition de la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* par une exposition continue à la lumière blanche : relations existant entre la photoinhibition et le niveau d'éclairement.

niveau d'éclairement $\times 10^2 \mu\text{w}/\text{cm}^2$.	Pit	niveau d'éclairement $\times 10^2 \mu\text{w}/\text{cm}^2$	Pit
1	0,15	4,5	0,65
1,5	0,21	5	0,71
2	0,27	5,5	0,77
2,5	0,35	6	0,75
3	0,44	7	0,75
3,5	0,50	8	0,78
4	0,60	9	0,74

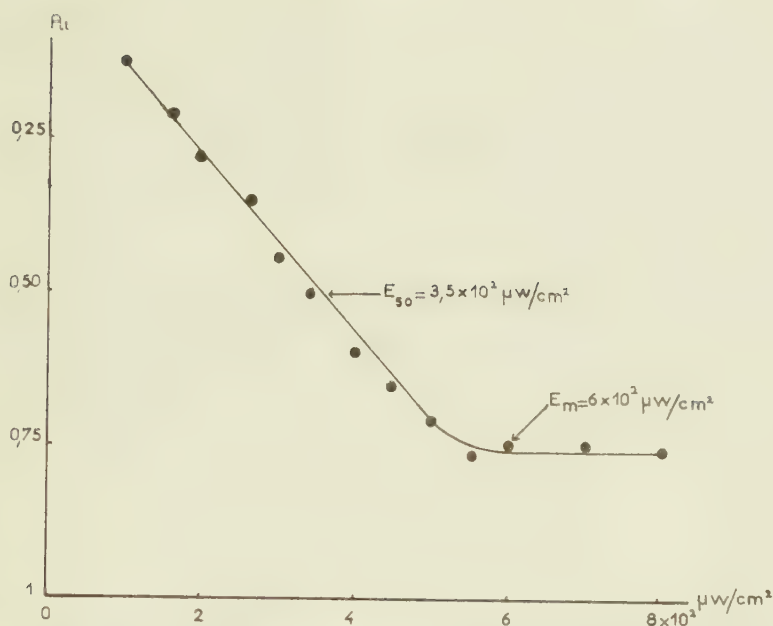


FIGURE 14. — Influence du niveau d'éclairement de lumière blanche sur la photoinhibition des graines de *Phacelia Tanacetifolia*.

TABLEAU XI

Résultats d'expériences préliminaires portant sur la détermination du spectre d'action de la lumière.

longueur d'onde en m μ	410	440	480	510	550	600	660	700	730
Pit	0,40	0,25	0,35	0,10	0	0,10	0,60	0,50	0,75

On étudiera donc successivement l'action de la lumière rouge et de la lumière bleue.

2. — INFLUENCE DE LA LUMIERE ROUGE (560-760 m μ).

a) *détermination du spectre d'action isoquantique.* — Des expériences sont réalisées pour déterminer le spectre d'action isoquantique de la lumière rouge. L'intensité de la source est réglée pour obtenir, au niveau des graines, un éclairement de $20 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ à une longueur d'onde de 660 m μ . Pour chaque filtre utilisé,

l'intensité de la source est modifiée pour que le rapport $\frac{\text{éclairement}}{\text{longueur d'onde}}$ reste constant. La figure 15 illustre les résultats obtenus. La lumière rouge présente deux zones d'activité, l'une entre 600 et 680 m μ avec un maximum à 660 m μ , l'autre entre 700 et 760 m μ avec un maximum vers 720 m μ . Une étude séparée de ces deux lumières est alors entreprise.

b) *influence de la lumière rouge clair (600-680 m μ)*. — L'inhibition de la germination se produisant essentiellement pour des expositions continues à la lumière, les premières expériences cherchent à préciser les rapports qui existent entre l'inhibition et le niveau d'éclairement.

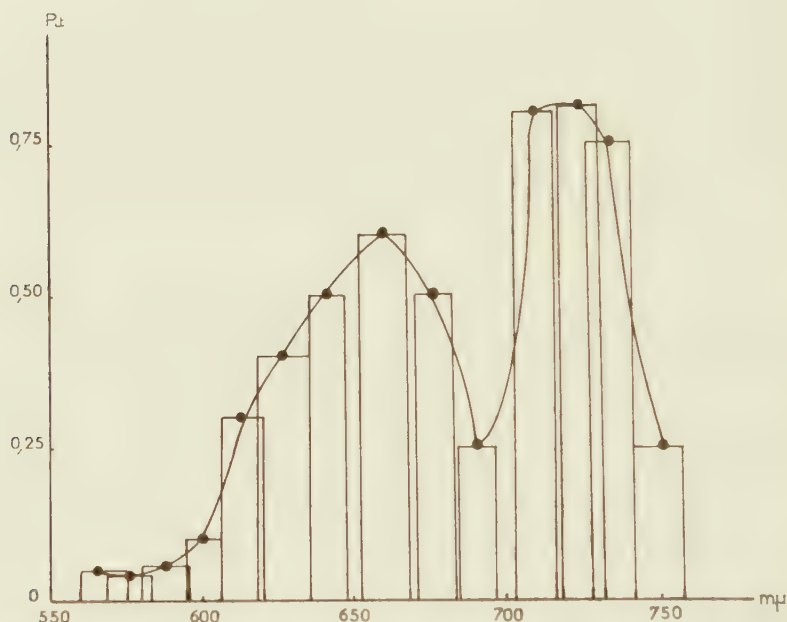


FIGURE 15. — Spectre d'action isoquantique de la lumière rouge.
Pit = photoinhibition.

— INFLUENCE D'EXPOSITIONS CONTINUES A LA LUMIÈRE ROUGE CLAIR : les graines sont exposées, dès le début de l'humidification, à un éclairement continu compris entre 1 et 15 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. Les résultats figurent dans le tableau XII.

Les courbes de la figure 16 montrent que la photoinhibition (Pi₂ et Pit) est une fonction linéaire de l'éclairement. 15 % des graines ne sont pas inhibées par la lumière rouge clair.

On peut se demander si une augmentation sensible du niveau d'éclairement ne provoquerait pas l'inhibition de toutes les graines. En utilisant un éclairement de 70 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ on obtient pour la photoinhibition une valeur de 0,85. Un certain nombre de graines (15%) semblent donc insensibles à la lumière rouge clair.

Lorsque les graines sont exposées à un éclairement continu de lumière rouge clair de 10 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$, la photoinhibition finale (Pit), calculée à la 48^{ème} heure, est de 0,50. Mais cette valeur évolue au cours du temps avant d'atteindre 0,50. La courbe de la figure 17 représente cette évolution : au début, la photoinhibition est élevée (0,90 à la 18^{ème} h.) puis diminue nettement entre la 23^{ème} et la 32^{ème} heure. Certaines graines ont donc leur germination ralentie mais non pas inhibée par la lumière rouge clair.

TABLEAU XII

Influence du niveau d'éclairement de lumière rouge clair* sur l'inhibition de germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*.

éclairement en $\mu\text{w}/\text{cm}^2$	*** Pit	**Pi ₂
1	0	0
2	0,08±0,02	0
3,2	0,15±0,04	0,07
4,5	0,27±0,02	0,15
6	0,37±0,03	0,20
7,4	0,52±0,01	0,35
9,1	0,63±0,02	0,46
10	0,72±0,02	0,50
11,3	0,76±0,02	0,57
12,2	0,85±0,04	0,65
13	0,85±0,03	0,72
14,5	0,83±0,03	0,83
15	0,86±0,04	0,80

* lumière rouge clair : 630 — 680 m μ . **Pi₂ = photoinhibition déterminée à la 24^{ème} heure ; ***Pit = photoinhibition calculée à la 48^{ème} heure.

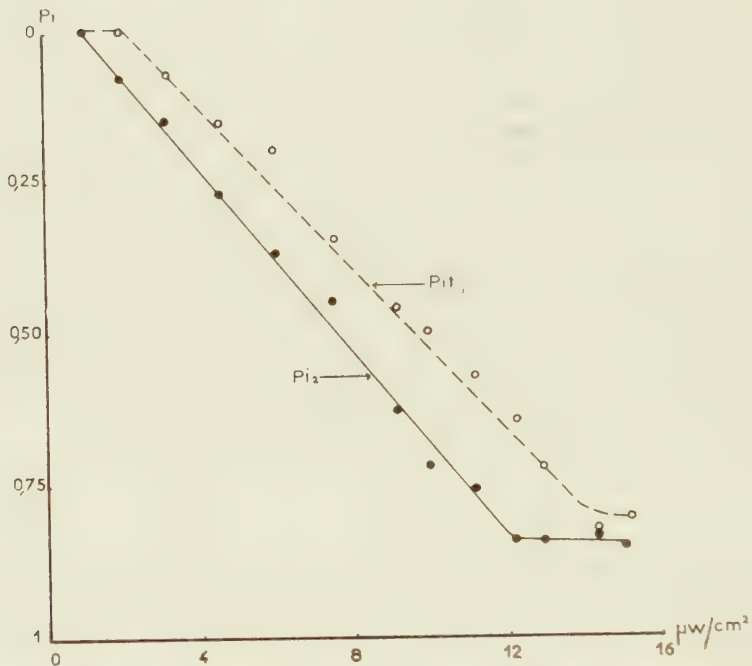


FIGURE 16. — Relation entre la photoinhibition et le niveau d'éclairement de lumière rouge clair.

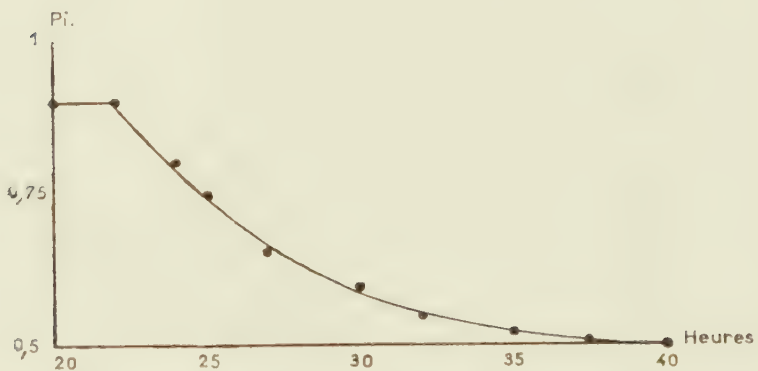


FIGURE 17. — Evolution de la photoinhibition ou Pi au cours du temps, des graines de *Phacelia tanacetifolia* pour un éclairement de lumière rouge clair déterminant une photoinhibition terminale (Pit) de 0,50.

— INFLUENCE D'EXPOSITIONS DE COURTES DUREES.

Les graines sont exposées pendant 1 heure à une lumière rouge clair de $100 \mu\text{w}/\text{cm}^2$, soit dès le début de l'humidification, soit après un temps plus ou moins long à l'obscurité. Pendant toute l'expérience la température demeure constante et égale à 22°C . Cette série d'essais permet de constater que la valeur de la photoinhibition terminale est toujours voisine de 1 : les éclaircissements courts n'inhibent pas la germination (tableau XIII). Par contre la valeur de la photoinhibition calculée à la 24^{ème} heure varie, ce qui prouve que ces mêmes éclaircissements ralentissent la germination (tableau XIII, figure 18).

Le maximum de sensibilité des graines à la lumière rouge clair est situé entre la deuxième et la troisième heure qui suivent le début de l'humidification (figure 18).

TABLEAU XIII

Influence de courtes expositions à la lumière rouge clair sur la valeur de la photoinhibition à la 24^{ème} heure (Pi_2) et à la 48^{ème} heure (Pit).

heures à l'obscurité avant l'exposition à la lumière rouge clair	Pi_2	Pit
0	0	0
1	$0,28 \pm 0,05$	0,05
2	$0,51 \pm 0,07$	0,06
2 1/2	$0,60 \pm 0,05$	0,02
3	$0,60 \pm 0,04$	0
3 1/2	$0,57 \pm 0,05$	0,08
4	$0,52 \pm 0,03$	0,04
5	$0,34 \pm 0,05$	0
6	$0,19 \pm 0,02$	0
7	0	0,05
8	0	0,06
9	0	0,05
10	0	0,04

Le fait d'augmenter la durée de l'éclairement ne modifie pas la photoinhibition (P_i) qui est égale à 0,03 après une exposition de 6 heures à la lumière rouge clair.

Il semble donc que la lumière rouge clair présente un maximum d'activité entre la 2^{ème} et la 3^{ème} heure après le début de l'humidification mais qu'elle inhibe la germination uniquement en éclaircissement continu. Des essais complémentaires vont permettre de préciser davantage ces conclusions.

— DÉTERMINATION DE LA PHASE DE GERMINATION CONTROLÉE PAR LA LUMIÈRE ROUGE CLAIR : des lots de graines sont placés à l'obscurité pendant des temps variables (entre 0 et 10 heures) puis sont exposés à un éclaircissement continu de lumière rouge clair de $13 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. Les résultats figurent dans le tableau XIV.

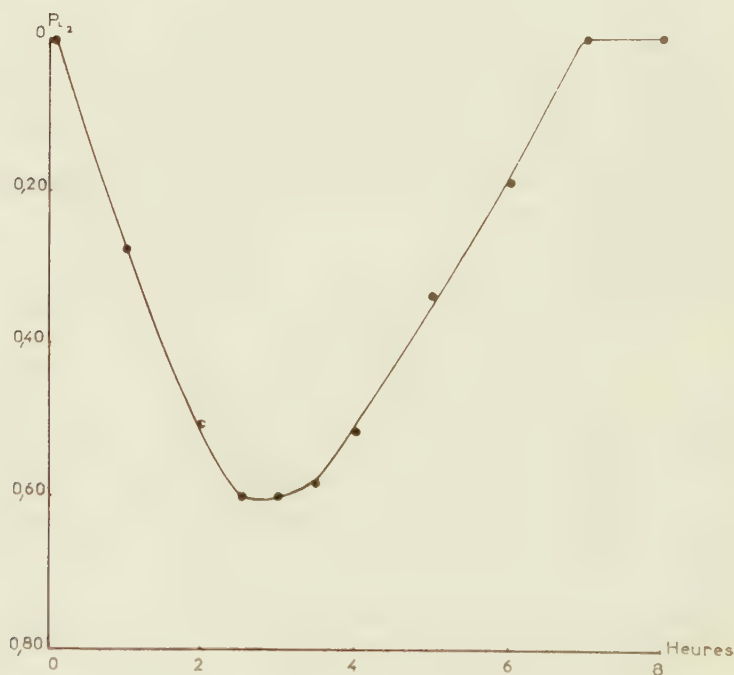


FIGURE 18. — Evolution de la sensibilité des graines de *Phacelia tanacetifolia* à la lumière rouge clair en fonction du temps (nombre d'heures à partir du début de l'humidification).

TABEAU XIV

Influence d'un éclaircment continu de lumière rouge clair* sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* : importance de la durée d'une période obscure précédant l'exposition à la lumière.

nombre d'heures à l'obscurité avant l'éclaircment continu :	Pi ₂	Pit
0	0,84	0,80
1	0,85	0,79
2	0,85	0,83
3	0,55	0,41
4	0,50	0,35
5	0,32	0,06
6	0,10	0,05
7	0	0
8	0	0,03
9	0	0,07
10	0	0

* lumière rouge clair : 630-680m μ ; 13 μ W/cm².

Cette expérience confirme les résultats obtenus : la lumière rouge clair inhibe la germination au cours des premières heures qui suivent le début de l'humidification avec un maximum entre la deuxième et la troisième heure, c'est-à-dire à la fin de la phase d'hydratation. Toutefois cette inhibition cesse dès que l'éclaircment est supprimé.

— CONCLUSIONS : L'action de la lumière rouge clair présente les caractéristiques suivantes : l'activité optimale correspond à une longueur d'onde voisine de 660 m μ . Il existe une relation linéaire entre le niveau d'éclaircment et la photoinhibition. Celle-ci se produit entre la deuxième et la troisième heure de la germination c'est-à-dire tout au début de la phase prégerminative, dès que l'hydratation des graines est terminée.

La germination se déroule dès que l'exposition à la lumière cesse ce qui indique la nécessité d'une excitation continue du photorécepteur.

c) influence de la lumière rouge sombre (700-750 m μ). — Le protocole expérimental suivi est le même que celui utilisé pour l'étude de la lumière rouge clair.

TABLEAU XV

Influence du niveau d'éclairement de lumière rouge sombre* sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*.

éclairement en $\mu\text{w}/\text{cm}^2$	** Pit	éclairement en $\mu\text{w}/\text{cm}^2$	Pit
0,5	$0,15 \pm 0,03$	10	$0,74 \pm 0,03$
1,3	$0,30 \pm 0,01$	12	$0,76 \pm 0,02$
2	$0,37 \pm 0,01$	14	$0,77 \pm 0,04$
3	$0,48 \pm 0,04$	15	$0,78 \pm 0,03$
5,5	$0,62 \pm 0,02$	17	$0,77 \pm 0,02$
7	$0,66 \pm 0,02$	19	$0,75 \pm 0,03$
9	$0,73 \pm 0,03$	20	$0,76 \pm 0,01$

* lumière rouge sombre : 700-750m μ . **Pit : photoinhibition calculée à la 48^{ème} heure.

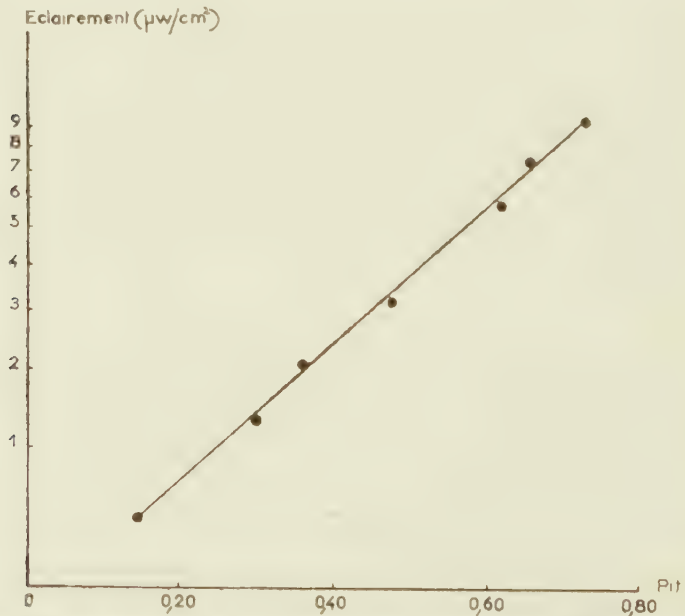


FIGURE 19. — Relation entre la photoinhibition des graines de *Phacelia tanacetifolia* par la lumière rouge et le niveau d'éclairement.

— INFLUENCE D'EXPOSITIONS CONTINUES A LA LUMIÈRE ROUGE SOMBRE. L'étude est réalisée pour des niveaux d'éclairement compris entre 9,5 et 20 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. La température de l'expérience est de 22° C. Les résultats sont exprimés dans le tableau XV et traduits par la figure 19.

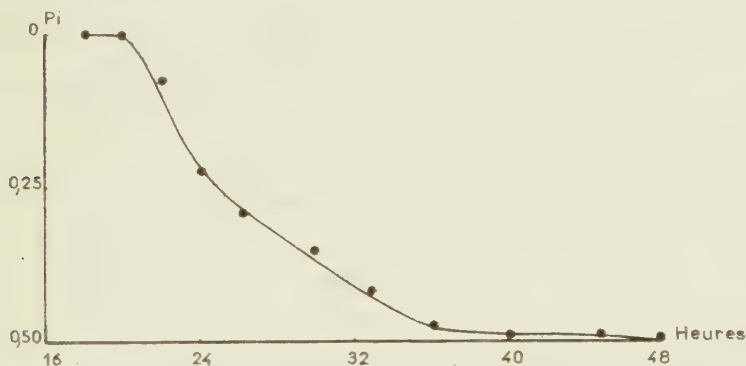


FIGURE 20. — Evolution de la photoinhibition (Pi) des graines de *Phacelia tanacetifolia* au cours du temps pour un éclairage de lumière rouge sombre déterminant une photoinhibition terminale (Pit) de 0,50.

Un éclairage continu de lumière rouge sombre inhibe la germination. Il existe une relation linéaire entre l'inhibition et le logarithme du niveau d'éclairement. Toutefois, même dans les conditions optimales, 25 % des graines germent.

Si les graines sont exposées à un éclairage de lumière rouge sombre de 3,3 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$, la valeur de la photoinhibition évolue avant d'atteindre 0,50. La figure 20 montre que la photoinhibition est nulle à la 18^{ème} heure puis augmente rapidement. Il semble donc que les graines qui échappent à l'inhibition germent les premières.

— INFLUENCE D'EXPOSITIONS DE COURTES DURÉES.

Des lots de 100 graines sont placés à l'obscurité pendant des temps variant entre 0 et 15 heures puis sont exposés pendant 1 heure à un éclairage de lumière rouge sombre de 100 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. Dans ce cas le pourcentage de germination terminal est toujours identique à celui des témoins (tableau XVI).

La photoinhibition calculée à la 24^{ème} heure (Pi₂) est égale à 1 si les graines sont exposées à la lumière rouge sombre entre la

première et la huitième heure qui suit le début de l'humidification. Après la huitième heure la valeur du P_{12} diminue. Toutefois les résultats ne sont pas assez précis pour pouvoir déterminer à quel moment les graines sont le plus sensible à la lumière rouge sombre (tableau XVI).

TABLEAU XVI

Influence d'exposition d'une heure à la lumière rouge sombre* sur la germination de *Phacelia tanacetifolia*.

heures d'obscurité avant éclairement	P_{12}	Pit
0	0	0
1	0	0
2	0	0
4	0	0
6	0	0
8	0,10	0
9	0,25	0
10	0,32	0
11	0,30	0
12	0,28	0
13	0,15	0
14	0	0

* lumière rouge sombre : 700-750 m μ ; 100 μ w/cm².

— Détermination de la phase de germination contrôlée par la lumière rouge sombre.

Dans une première série d'essais les graines sont exposées, dès le début de l'humidification, à un éclairement de lumière rouge sombre de durée variable (entre 1 et 15 heures). Les résultats figurent dans le tableau XVII.

De cette expérience il est permis de conclure que la lumière rouge sombre n'a pas d'action pour une durée d'éclairement inférieure à 8 heures et que la photoinhibition maximale nécessite un éclairement continu. De plus, si la durée d'éclairement dépasse 8 heures la valeur de P_{12} augmente (figure 22).

Dans une deuxième série d'essais les graines sont placées à l'obscurité pendant des temps variant de 1 à 15 heures puis sont

TABLEAU XVII

Influence de la durée d'exposition à la lumière rouge sombre* sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*.

durée de l'éclairement en heures	Pi ₂	Pit
1	0,03	0
2	0,10	0,07
4	0,11	0,05
6	0,06	0,03
7	0,08	0,08
8	0,22	0,16
10	0,44	0,20
11	0,63	0,24
13	0,64	0,28
15	0,62	0,35

* lumière rouge sombre : 700-750 mμ ; 100 μw/cm².

exposées à un éclaircment continu de lumière rouge sombre de 9 μw/cm². La température de l'expérience est de 22°C. Les résultats obtenus (tableau XVIII et fig. 21) montrent que si la durée de la période obscure qui précède l'exposition à la lumière est inférieure à 10 heures la photoinhibition demeure constante et élevée (Pit = 0,75). Par contre au-delà de 10 heures la photoinhibition diminue pour devenir nulle après 15 heures.

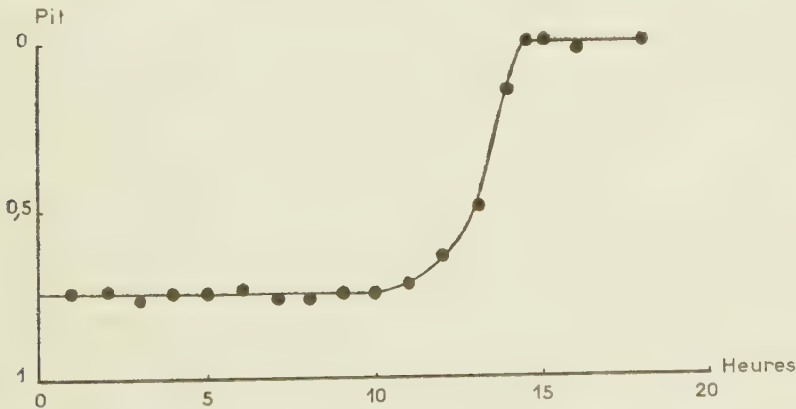


FIGURE 21. — Evolution de la sensibilité des graines de *Phacelia tanacetifolia* à la lumière rouge sombre en fonction du temps. En abscisse : le nombre d'heures à l'obscurité qui précède l'exposition à la lumière.

TABLEAU XVIII

Evolution de la photoinhibition (Pit) en fonction de la durée de la période obscure qui précède l'éclairement*.

durée de la période obscure **	Pit	durée de la période obscure	Pit
0	0,75	12	0,64
2	0,75	13	0,50
4	0,73	14	0,15
6	0,77	14 1/2	0
8	0,74	15	0
10	0,75	16	0
11	0,72	18	0

* lumière rouge sombre : 700-750 m μ ; 9 μ w/cm². ** en heures.

En exposant les graines plus ou moins longtemps à la lumière rouge sombre, dès le début de l'humidification, il est possible de déterminer le moment à partir duquel agit la lumière (tableau XVII).

En plaçant les graines, dès le début de l'humidification, à l'obscurité, pendant un temps plus ou moins long, puis en les exposant à un éclaircissement continu de lumière rouge sombre il est possible de savoir à partir de quel moment la lumière n'est plus active (tableau XVIII).

La figure 22 confronte les résultats de ces deux expériences et permet de délimiter, pour un lot de graines, la période de la germination contrôlée par la lumière rouge sombre. La courbe en trait plein est construite en mettant en abscisse le nombre d'heures d'exposition à la lumière rouge sombre et en ordonnée la valeur de la photoinhibition qui en résultera à la 24^{ème} heure (Pi₂). La courbe en traits interrompus est obtenue en mettant en abscisse le nombre d'heures pendant lesquelles les graines humidifiées sont placées à l'obscurité avant d'être exposées à un éclaircissement continu de lumière rouge sombre ; les valeurs de la photoinhibition terminale sont représentées en ordonnée.

On constate que dans le premier cas la lumière rouge sombre commence à agir à partir de la 7^{ème} heure et a une activité maximale à la 11^{ème} heure ; on observe dans le deuxième cas que le pouvoir inhibiteur de la lumière rouge sombre diminue à partir de la

11^{ème} heure pour devenir nul après la 15^{ème} heure. Ainsi, pour un lot de 100 graines, la sensibilité à la lumière rouge sombre passe par un maximum 11 heures après le début de l'humidification des graines.

Il est également possible de préciser à quel moment une graine considérée présente un maximum de sensibilité à la lumière rouge sombre. En effet, la courbe de la figure 10 montre que les premières germinations se produisent à la 15^{ème} heure et qu'à la 24^{ème} heure plus de 75% des graines ont germé ; on sait d'autre part que l'influence de la lumière rouge sombre débute à la 7^{ème} heure et cesse à la 15^{ème} heure. Par conséquent la lumière rouge sombre inhibe des réactions se produisant à la 7^{ème} heure pour les graines qui germent très rapidement et à la 15^{ème} heure pour les graines dont la germination est très lente. La lumière rouge sombre inhibe donc la germination au début de sa troisième phase dite « phase germinative ».

La comparaison de la courbe représentant le pourcentage de germination en fonction du temps (figure 10) et celle qui illustre les variations de l'activité de la lumière rouge sombre en fonction du temps (figure 22) permet de constater que la durée de la phase germinative est constante d'une graine à l'autre et égale à 8 heures.

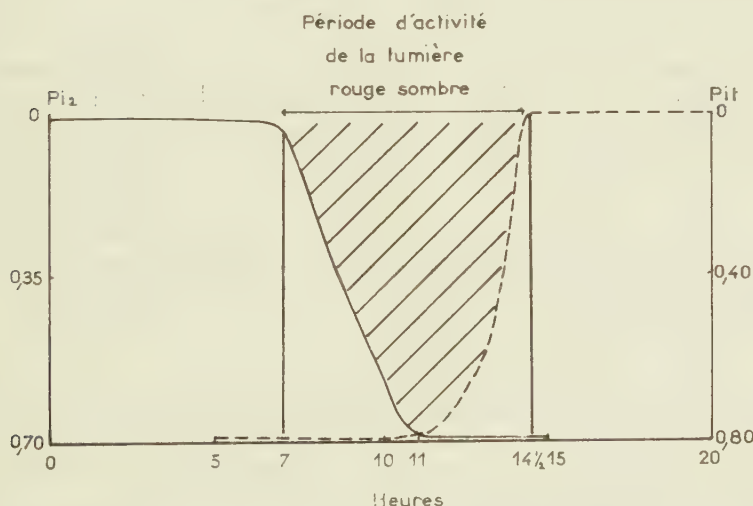


FIGURE 22. — Schéma montrant à quel moment, à partir du début de l'humidification, un lot de 100 graines présente un maximum de sensibilité à la lumière rouge sombre.

— *spectre d'action de la lumière rouge sombre.*

Des filtres interférentiels SEAVOM, dont la largeur de bande est de 20 mμ, sont utilisés pour cette étude. En ce qui concerne le filtre présentant un maximum d'absorption à 710 mμ, l'intensité de la source est réglée pour que l'éclairement, mesuré au niveau des graines, soit de 3,3 μw cm² ; pour les autres filtres l'intensité

de la source est telle que le rapport $\frac{\text{éclairement}}{\text{longueur d'onde}}$ reste constant.

La photoinhibition est déterminée dans chaque cas. Cette expérience démontre que l'inhibition est maximale pour une longueur d'onde voisine de 710 mμ. Les résultats exposés dans le tableau XIX en fournissent la démonstration.

TABLEAU XIX

Photoinhibition par la lumière rouge sombre en fonction de la longueur d'onde.

filtres limites de transmission en mμ	longueur d'onde maximale en mμ	Pit
680 — 695	689	0,21 ± 0,03
690 — 710	701	0,38 ± 0,04
700 — 720	710	0,51 ± 0,02
720 — 740	732	0,42 ± 0,03
730 — 750	739	0,27 ± 0,04
740 — 763	753	0,11 ± 0,03

— *Conclusions.*

La lumière rouge sombre inhibe la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*. La longueur d'onde optimale est voisine de 710 mμ. L'inhibition est une fonction linéaire du logarithme du niveau d'éclairement.

Les graines sont sensibles à la lumière rouge sombre pendant leur troisième phase de germination. Elles peuvent cependant germer si l'excitation du photorécepteur cesse. 25 % des graines ne sont pas inhibées par la lumière rouge sombre. On constate seulement un retard dans leur germination.

d) *influence des lumières rouge clair et rouge sombre (600-800 m μ).*

Quelques essais réalisés avec des filtres SEAVOM transmettant la lumière de 600 à 800 m μ montrent que le niveau d'éclairement nécessaire pour réduire la germination de 50 % (E_{50}) est égal à 50 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ si les graines sont exposées à la lumière dès le début de l'humidification. Ainsi les lumières rouge clair et rouge sombre, qui toutes deux inhibent la germination, semblent moins actives lorsqu'elles agissent ensemble.

En utilisant un éclairage continu de lumière rouge, on provoque une inhibition de la germination par la lumière rouge clair à la fin de la phase d'hydratation et par la lumière rouge sombre au début de la phase germinative.

Il n'est donc pas possible de savoir si la lumière rouge sombre, en plus de son action inhibitrice à la fin de la germination, n'est pas susceptible de supprimer l'influence de la lumière rouge clair comme cela se produit chez les graines à photosensibilité positive.

Le processus expérimental suivant est adopté pour tenter de mettre en évidence l'antagonisme entre les lumières rouge clair et rouge sombre : les graines sont exposées pendant 6 heures à un éclairage de lumière rouge (50 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$) puis, à partir de la septième heure, à un éclairage continu de lumière rouge clair (13 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$). En procédant ainsi on évite l'action inhibitrice de la lumière rouge sombre qui se produit à partir de la huitième heure de germination ; par contre s'il existe réellement un antagonisme entre les lumières rouge clair et rouge sombre, celui-ci pourra se manifester parce que les graines sont particulièrement sensibles à la lumière rouge clair entre la troisième et cinquième heure de germination.

Dans ces conditions, 40 % des graines germent alors que le pourcentage de germination est de 15 % si les graines sont exposées à un éclairage de lumière rouge clair (13 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$).

Cette expérience indique que la lumière rouge sombre supprime partiellement l'inhibition due à la lumière rouge clair.

3. — *Influence de la lumière bleue (400-500 m μ).*

a) *influence d'expositions continues.*

Les graines, dès le début de l'humidification, sont exposées à un éclairage continu de lumière bleue de 10 à 34 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

Les installations que nous possédons ne permettent pas d'étudier l'influence de niveaux d'éclairement supérieurs. Les résultats sont exprimés dans le tableau XX et sont traduits par la figure 23.

TABLEAU XX

Photoinhibition par la lumière bleue en fonction du niveau d'éclairement.

éclairement en $\mu\text{w}/\text{cm}^2$	10	13	14,5	16	18,3	20,3	24	30	34
Pit	0	0	0,10	0,19	0,28	0,35	0,45	0,50	0,55

Une exposition continue des graines à la lumière bleue inhibe la germination mais dans ce cas le niveau d'éclairement doit être assez élevé. Avec un éclairement de $30 \mu\text{w}/\text{cm}^2$, 50% des graines germent encore. La photoinhibition est une fonction linéaire du logarithme de l'éclairement.

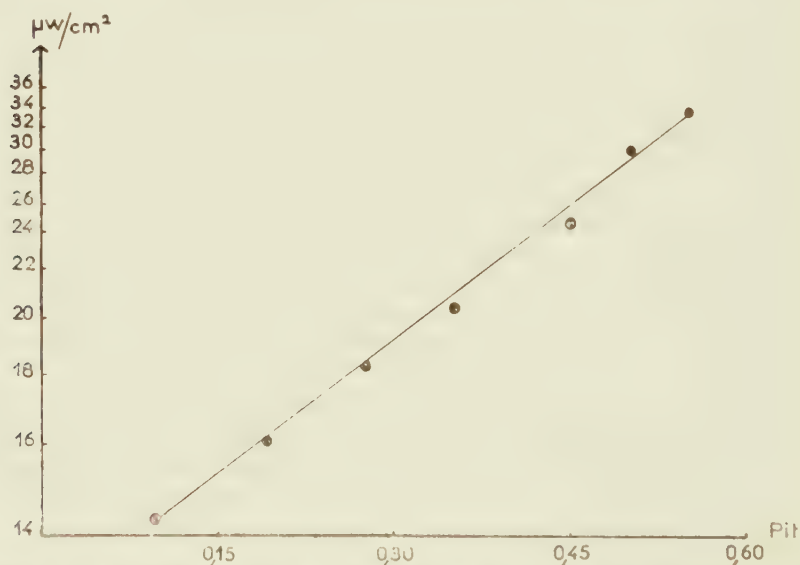


FIGURE 23. — Relation entre l'inhibition de germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* par la lumière bleue et le niveau d'éclairement.

Comme pour les lumières rouge clair et rouge sombre, l'évolution de la photoinhibition en fonction du temps est déterminée pour un éclairement tel que Pit soit égal à 0,50. La figure 24 montre que la photoinhibition est faible au début puis s'élève pour atteindre la valeur de 0,50 à la 36^{ème} heure.

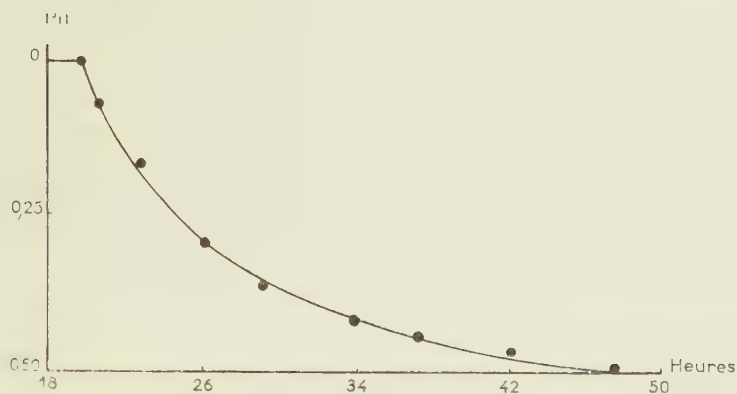


FIGURE 24. — Evolution de la photoinhibition (Pi) au cours du temps pour un éclairement de lumière bleue déterminant une photoinhibition terminale (Pit) de 0,50.

b) *influence d'expositions de courtes durées.*

Nos installations ne permettent pas d'obtenir un niveau d'éclairement suffisant pour avoir une photoinhibition nette.

c) *détermination de la phase de germination contrôlée par la lumière bleue.*

TABEAU XXI

Influence d'un éclairement continu de lumière bleue* : relation entre la photoinhibition et la durée de la période obscure précédant l'éclairement.

durée de la période obscure **	Pit	durée de la période obscure	Pit
0	0,50	12	0,36
2	0,50	13	0,27
4	0,49	14	0,07
6	0,52	15	0
8	0,51	16	0
10	0,50	17	0
11	0,45	18	0

* lumière bleue : 400-480 mμ ; 30 μw/cm²

** en heures.

Les graines sont placées, dès le début de l'humidification, à l'obscurité à 22°C pendant des temps variant entre 1 et 18 heures puis sont exposées à un éclairciment continu de lumière bleue de 30 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. Les résultats figurent dans le tableau XXI.

Si la durée de la période d'obscurité ne dépasse pas 10 heures à partir du début de l'humidification, la photoinhibition provoquée par la lumière bleue demeure constante tant que dure l'éclairciment (figure 25). Au-delà de la 10^{ème} heure la photoinhibition diminue pour s'annuler à la 15^{ème} heure.

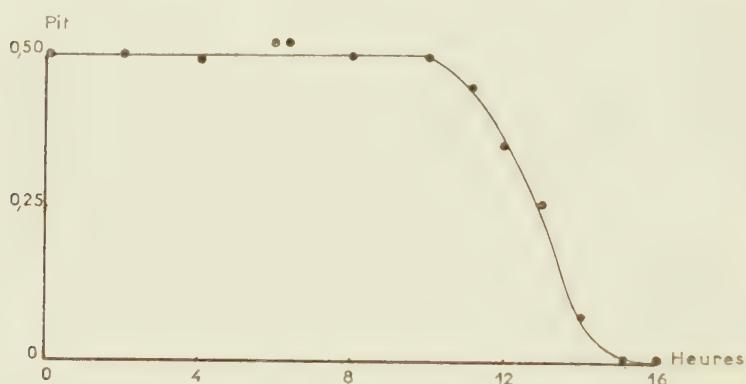


FIGURE 25. — Evolution de la sensibilité des graines de *Phacelia tanacetifolia* à la lumière bleue en fonction du temps. En abscisse : le nombre d'heures à l'obscurité qui précède l'exposition à la lumière.

TABEAU XXII

Spectre d'action isoquantique de la lumière bleue*.

limites de transmission en m μ	longueur d'onde maximum m μ	Pit
403 — 418	410	0,35
415 — 430	422	0,39
431 — 443	436	0,46
441 — 456	448	0,51
456 — 472	462	0,32
470 — 484	477	0
490 — 508	500	0,21
502 — 514	508	0,38
514 — 525	520	0

* lumière bleue 30 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ à 462 m μ .

d) *détermination du spectre d'action de la lumière bleue.*

Une série de filtres interférentiels possédant une bande passante comprise entre 12 et 15 m μ est utilisée. L'intensité de la source est réglée pour que l'éclairement provenant du filtre ayant un maximum de transmission à 462 m μ , soit de 30 μ w/cm². Les résultats sont consignés dans le tableau XXII.

La figure 26 montre qu'il existe deux maxima, l'un situé vers 448 m μ et l'autre aux environs de 508 m μ .

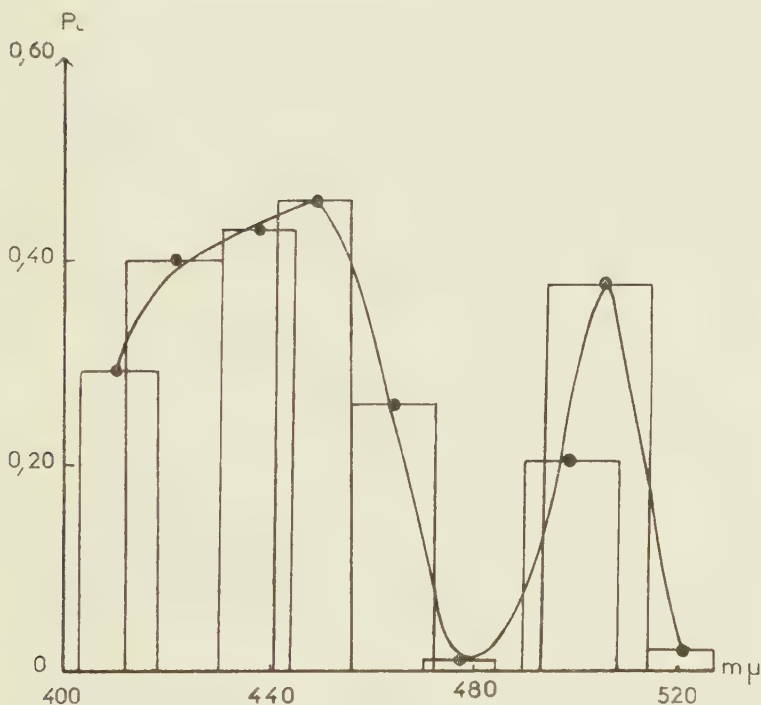


FIGURE 26. — Spectre d'action de la lumière bleue.

e) *conclusions*

La lumière de longueur d'onde comprise entre 400 et 525 m μ inhibe la germination avec deux maxima, l'un aux environs de 448 m μ et l'autre de 508 m μ . La lumière bleue (448 m μ) inhibe la germination au cours de la troisième phase. Son action nécessite un éclairement continu d'un niveau relativement élevé.

4. — COMPARAISON ENTRE L'ACTION DES LUMIÈRES ROUGE SOMBRE ET BLEUE.

Tous les résultats obtenus avec les lumières rouge sombre et bleue présentent de grandes similitudes : mêmes rapports entre la photoinhibition et le niveau d'éclairement (figure 19 et 23), contrôle de la même phase de germination. La seule différence réside dans le fait que les graines sont nettement plus sensibles à la lumière rouge sombre qu'à la lumière bleue. En effet, pour obtenir l'inhibition de la germination de 50 % des graines il est nécessaire d'utiliser un éclairement de lumière rouge sombre de $3,3 \mu\text{w}/\text{cm}^2$ et un éclairement de lumière bleue de $30 \mu\text{w}/\text{cm}^2$.

Si l'on tient compte de l'énergie quantique de ces deux lumières on déduit que la lumière rouge sombre est seize fois plus active que la lumière bleue.

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ces différences :

— Le photorécepteur n'est pas le même pour les lumières bleue et rouge sombre ce qui paraît peu vraisemblable car l'action de ces deux lumières présente de grandes similitudes.

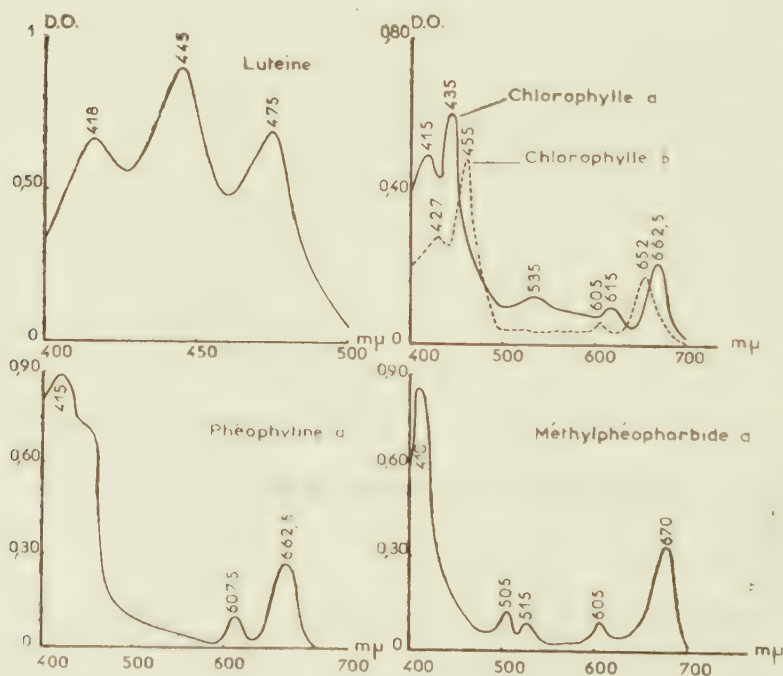


FIGURE 27. — Spectre d'absorption des pigments lipophiles contenus dans les téguments des graines de *Phacelia tanacetifolia*.

— le photorécepteur présente deux pics d'absorption, l'un dans le bleu, l'autre dans le rouge sombre. De ce fait la différence de sensibilité des graines à ces deux lumières pourrait s'expliquer ainsi : il existe dans les téguments des graines de nombreux pigments absorbant la lumière bleue et ne présentant pas d'absorption au delà de 700 m μ . Il est possible que ces pigments jouent le rôle d'écran. Une analyse des pigments contenus dans les téguments des graines de *Phacelia tanacetifolia* permet de déceler la présence de lutéine, de chlorophylle a, de chlorophylle b, de phéophytine a et de méthylphéophorbide a (figure 27).

5. — CONCLUSIONS.

La germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* est inhibée par les lumières bleue (448 et 508 m μ), rouge clair (660 m μ) et rouge sombre (710 m μ).

La lumière rouge clair inhibe des réactions se produisant au cours des premières heures de la germination (maximum à la 3^{ème} heure), plus précisément au début de la phase prégerminative. La photoinhibition est une fonction linéaire de l'éclairement. 15% des graines échappent à cette inhibition.

Le tableau XXIII et la figure 28 résument l'action de ces lumières.

TABLEAU XXIII

Caractéristiques de l'action des lumières rouge clair, rouge sombre et bleue sur la germination de *Phacelia tanacetifolia*.

Caractéristiques lumière	longueur d'onde optimale en m μ	E _o en μ w/cm ²	E ₅₀ en μ w/cm ²	E _m en μ w/cm ²	Relations entr F it et l'éclair- ement	Phase de la germination inhibée par la lumière
rouge clair	660	3,2	10	14	fonction linéaire de l'éclair- ement	début de la phase prégerminative
rouge sombre	710	0,5	3	9	fonction linéaire du log. de l'éclair- ement	phase germinative
bleue	448 et 508	13	30	?	fonction linéaire du log. de l'éclair- ement	phase germinative

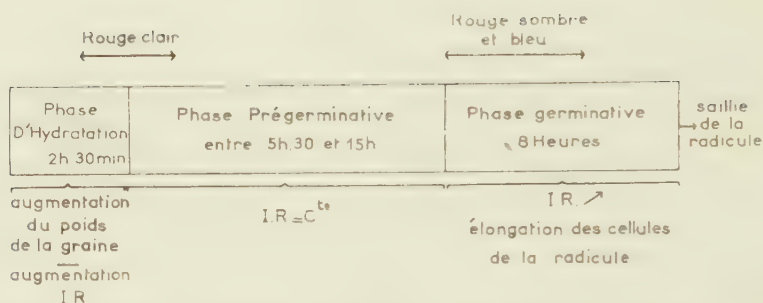


FIGURE 28. — Schéma récapitulant l'action des différentes lumières sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*.

Les lumières rouge sombre et bleue inhibent des réactions se produisant pendant la phase germinative caractérisée par le début de l'élongation des cellules de la radicule. 25% des graines ne sont pas inhibées par la lumière rouge sombre.

D. — Facteurs capables de modifier la photoinhibition.

Certains facteurs physiques, mécaniques et chimiques peuvent modifier la photoinhibition due à l'un des systèmes photorécepteurs déjà définis.

I. — FACTEURS MODIFIANT LA PHOTOINHIBITION DUE A LA LUMIÈRE ROUGE CLAIR.

Un abaissement de la température est capable de supprimer la photoinhibition chez beaucoup de semences (4, 22).

a) *influence de la température.* — Les graines sont placées dans les conditions optimales d'inhibition : exposition, dès le début de l'humidification, à un éclaircissement continu de 14 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. La tem-

TABLEAU XXIV

Influence de la température sur la photoinhibition par la lumière rouge clair*.

température en °C	3	5	7	10	12	15	18	20	22
Pit	0,11	0,14	0,15	0,10	0,20	0,27	0,40	0,56	0,85

* lumière rouge clair : 630 680 m μ ; 14 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

pérature de l'expérience est comprise entre 3 et 22° C. Comme le montre le tableau XXIV la température modifie sensiblement la photoinhibition. La germination n'est pas inhibée par la lumière à des températures inférieures ou égales à 10°C. Au delà de 10°C la photoinhibition augmente avec l'élévation de la température.

b) *influence de la scarification des téguments.* — Une scarification des téguments peut permettre la germination de graines exposées à un éclairciment continu mais tout dépend de sa localisation. La figure 29 présente un schéma de la graine ainsi que les différentes scarifications effectuées. Les résultats suivants sont obtenus : si la scarification est pratiquée en A, 95% des graines germent. Les scarifications en B, C et D n'ont aucune influence.

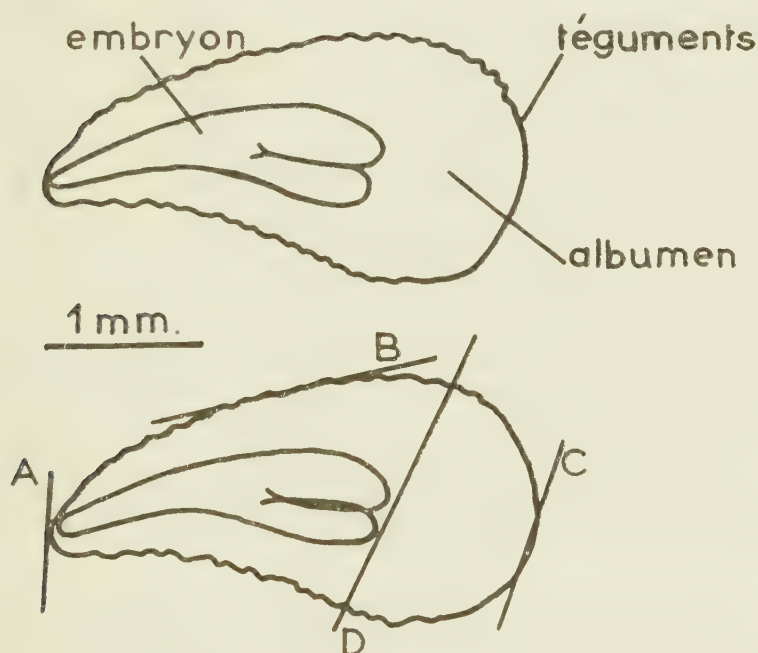


FIGURE 29. — Schéma montrant la localisation des scarifications.

D'autre part la scarification en A provoque la germination quel que soit le temps d'exposition à la lumière qui la précède.

c) *influence de la teneur en oxygène de l'atmosphère.* — Les fortes tensions d'oxygène (75%) permettent la germination de graines exposées à un éclairciment continu. Le fait d'exposer les graines à la lumière en atmosphère normale, pendant un certain

nombre d'heures, puis de les transférer dans un mélange gazeux riche en oxygène ne modifie pas les résultats. Dans tous les cas 85% des graines germent.

Si une augmentation de la tension d'oxygène supprime la photoinhibition, sa diminution provoque les mêmes effets (Tableau XXV).

TABLEAU XXV

Influence des faibles tensions d'oxygène sur la photoinhibition provoquée par la lumière rouge clair*.

tension d'oxygène en %	21	15	6	1
% de germination à la lumière	12	11	48	69
% de germination à l'obscurité	85	83	80	68

* lumière rouge clair : 630-680 mμ ; 14 μw/cm².

d) *influence de l'eau oxygénée.* — Des « trempages » de 15 minutes dans l'eau oxygénée dite à 110 volumes provoquent la germination à la lumière de 70 % des graines. L'eau oxygénée peut agir soit en détruisant l'intégrité des téguments soit en libérant de l'oxygène. Des « trempages » dans l'acide sulfurique ne produisant aucun effet, l'eau oxygénée semble intervenir grâce à l'oxygène provenant de sa décomposition.

e) *influence des substances de croissance.* — Alors que l'acide indolylacétique et la kinétine ne modifient pas les conditions de la

TABLEAU XXVI

Influence de l'acide gibbéréllique sur la germination de graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairage continu de lumière rouge clair*.

Concentration x 10 ⁶	Témoin eau	1	2	3	4	5	8	10	12	15	16	20
Pit	0,80	0,79	0,72	0,63	0,50	0,48	0,39	0,28	0,20	0,12	0,08	0,04

* lumière rouge clair : 630-680 mμ ; 14 μw/cm².

photoinhibition, l'acide gibbéréllique anihile l'effet inhibiteur de la lumière rouge clair. Le tableau XXVI et la figure 30 présentent les résultats obtenus si les graines, humidifiées par une solution d'acide gibbéréllique de concentration comprise entre 1 et 20×10^{-6} sont exposées à un éclairage continu de lumière rouge clair de $14 \mu\text{w}/\text{cm}^2$.

L'influence de l'acide gibbéréllique peut être caractérisée par les valeurs suivantes : la concentration minimale est de 2×10^{-6} , la concentration nécessaire pour obtenir la réduction de 50% de la photoinhibition est de $5,5 \times 10^{-6}$ et la concentration optimale de 2×10^{-5} .

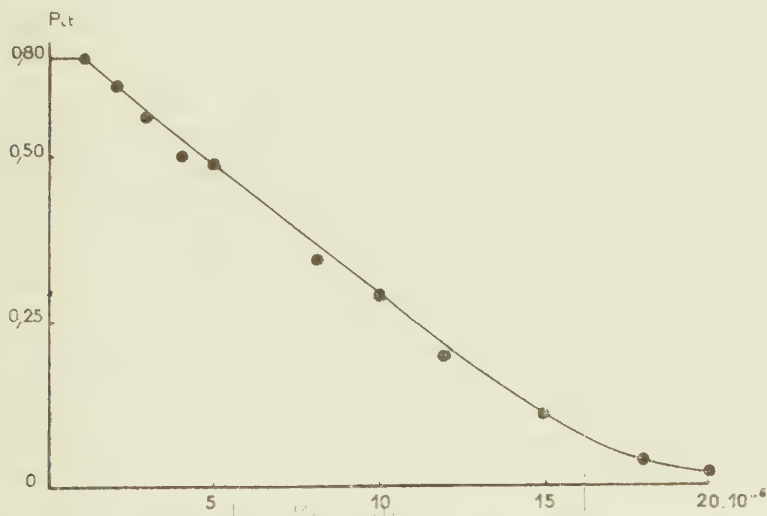


FIGURE 30. — Influence de la concentration en acide gibbéréllique sur le pourcentage de germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairage continu de lumière rouge clair.

Les mêmes résultats sont obtenus si l'acide gibbéréllique est ajouté au milieu de germination après un certain nombre d'heures pendant lesquelles la lumière rouge clair a pu agir. Ainsi des graines humidifiées par l'eau sont exposées à un éclairage continu de lumière rouge clair puis, au bout de 4, 8 ou 16 heures, sont placées sur un milieu contenant une solution d'acide gibbéréllique à 2×10^{-5} . Dans tous les cas la valeur de la photoinhibition est inférieure à 0,10.

f) conclusions. — La photoinhibition de la germination est conditionnée par un certain nombre de facteurs. Alors que l'inhibition est maximum à 22°C , tout abaissement de température

provoque la germination. Entre 22 et 10°C. la photoinhibition est proportionnelle à la température.

La teneur en oxygène de l'atmosphère joue un grand rôle. Pour des tensions d'oxygène élevées ou au contraire très basses, l'inhibition de la germination ne se produit pas.

Une scarification mécanique pratiquée au « pôle radiculaire » de la graine permet la germination.

L'acide gibbéréllique peut provoquer la germination par un processus qui n'est pas inhibé par la lumière rouge clair.

2. — FACTEURS MODIFIANT LA PHOTOINHIBITION DUE A LA LUMIÈRE ROUGE SOMBRE.

L'influence de facteurs physiques, mécaniques et chimiques est successivement envisagée.

a) *influence de la température.* — Les graines sont exposées, dès le début de leur humidification, à un éclaircment continu de lumière rouge sombre de 9 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. La température de l'expérience est comprise entre 5 et 22° C. Comme le montre le tableau XXVII, un abaissement de la température ne provoque pas de diminution sensible de la photoinhibition.

TABLEAU XXVII

Influence de la température sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclaircment continu de lumière rouge sombre*.

Température en °C. **	5	8	10	12	15	18	20	22
Pit	0,69	0,73	0,72	0,77	0,80	0,75	0,76	0,76

* lumière rouge sombre : 700-750 m μ ; 9 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. ** $\pm$ 0,5° C

b) *influence de la scarification des téguents.* — La scarification mécanique est efficace uniquement si elle est pratiquée au niveau de la radicule, c'est-à-dire en A (figure 28). Dans ce cas 90 % des graines germent.

Si la scarification est effectuée sur des graines exposées depuis 24 ou 48 heures à la lumière, le pourcentage de germination reste aussi élevé.

Le photorécepteur est peut-être localisé dans la région radiculaire ; cependant il est possible qu'il agisse uniquement dans

cette partie de la graine bien qu'il soit présent dans tous les tissus. En effet, la croissance des cellules est localisée dans la radicule au cours de la germination.

Cette hypothèse est confirmée par l'expérience suivante : des boîtes de Pétri sont remplies de sable humide sur lequel est placé un disque de papier d'étain. Les graines, encastrées dans des trous pratiqués dans le papier d'étain, sont orientées pour que seule la région cotylédonaire ou la région radiculaire soit exposée à la lumière, l'autre étant enfouie dans le sable. La température de l'expérience est de 22° C. Si la région cotylédonaire est exposée à la lumière, 90 % des graines germent. Si la lumière agit sur la zone radiculaire, 15 % des graines germent.

c) *influence de la teneur en oxygène de l'atmosphère.* — L'influence des fortes tensions d'oxygène est tout d'abord envisagée. Dans une première série d'expériences, les graines sont placées, dès le début de l'humidification, dans une atmosphère riche en oxygène (75 %) et sont exposées à un éclairage continu de lumière rouge sombre de 9 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$: 90 % des graines germent.

Dans une deuxième série d'expériences, les graines humidifiées sont placées en atmosphère normale pendant un certain nombre d'heures puis sont transférées dans un mélange gazeux contenant 75 % d'oxygène. Pendant toute l'expérience les graines sont exposées à la lumière rouge sombre. Le tableau XXVIII résume les résultats obtenus.

TABLEAU XXVIII

Influence des fortes tensions d'oxygène sur la germination de graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées pendant un certain nombre d'heures à la lumière rouge sombre* en atmosphère normale.

Nombre d'heures en atmosphère normale	0	2	6	8	10	12	13	11	16	18
Pit	0,05	0,08	0,07	0,10	0,18	0,29	0,50	0,67	0,79	0,76

* rouge sombre = 9 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

Il est donc possible de conclure que les fortes tensions d'oxygène sont susceptibles de faire germer les graines à la lumière. Cependant l'action de l'oxygène doit précéder la réaction de photoinhibition déclenchée par la lumière rouge sombre. En effet, pour un lot de graines considéré, le début de l'inhibition par la lumière

se produit à la huitième heure ; à la quinzième heure toutes les graines sont inhibées. Or, dans cette expérience, la stimulation par les fortes tensions d'oxygène commence à diminuer à partir de la huitième heure et cesse à la seizième heure.

Si la pression partielle d'oxygène est inférieure à celle de l'air la photoinhibition demeure élevée (tableau XXIX).

TABLEAU XXIX

Influence de la tension d'oxygène sur la germination de graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairage continu de lumière rouge sombre.

tension d'oxygène en %	21	15	6	1
% de germination à la lumière	21	16	19	12
% de germination à l'obscurité	85	83	80	69

d) influence des substances de croissance. —

— l'acide gibbérellique (GA_3).

Les graines, humidifiées par une solution d'acide gibbérellique à une concentration comprise entre 10^{-5} et 10^{-3} , sont exposées à un éclairage continu de lumière rouge sombre de 9 $\mu W/cm^2$. La température de l'expérience est de 22° C. Le tableau XXX indique les valeurs obtenues pour Pi_2 et Pit .

TABLEAU XXX

Influence de l'acide gibbérellique sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairage continu de lumière rouge sombre.

concentration	0	10^{-5}	10^{-4}	3×10^{-4}	6×10^{-4}	10^{-3}
Pi_2	0,41	0,50	0,47	0,36	0,32	0,25
Pit	0,75	0,74	0,75	0,62	0,58	0,60

En présence d'acide gibbérellique quelques graines peuvent germer lorsqu'elles sont exposées à un éclairage de lumière rouge sombre, mais la photoinhibition n'est jamais inférieure à 0,50.

Différents facteurs sont susceptibles de modifier l'action de l'acide gibbérellique.

Il serait intéressant de savoir si l'acide gibbérellique peut agir uniquement avant la réaction de photoinhibition ou bien indépendamment de celle-ci.

Les graines, humidifiées par l'eau, sont exposées à un éclairage continu de lumière rouge sombre ; au bout d'un certain nombre d'heures les graines sont placées sur un milieu contenant de l'acide gibbérellique à la concentration de 6×10^{-4} ; les résultats sont réunis dans le tableau XXXI.

TABLEAU XXXI

Influence de l'acide gibbérellique sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairage continu de lumière rouge sombre : valeur de la photoinhibition en fonction du moment où l'acide gibbérellique est ajouté au milieu de germination.

Heures écoulées avant que GA ₃ soit ajouté au milieu de germination	0	2	4	6	8	10	12	14	16
Pit	0,50	0,49	0,54	0,52	0,58	0,62	0,68	0,72	0,77

L'acide gibbérellique détermine la germination d'un certain nombre de graines s'il peut agir avant que la réaction de photoinhibition ait lieu.

L'influence de l'acide gibbérellique peut être également modifiée par la température. Le tableau XXXII donne les résultats relatifs à l'influence d'une solution d'acide gibbérellique à 1×10^{-4} , 3×10^{-4} et 6×10^{-4} sur la valeur de la photoinhibition en fonction de la température (Figure 31).

L'acide gibbérellique annihile la photoinhibition (Pit = 0,02) si la température est égale ou inférieure à 15° C. Par contre à 22° C son action est faible (Pit = 0,60).

TABIEAU XXXII

Influence de l'acide gibbéréllique sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairéement continu de lumière rouge sombre : valeur de la photoinhibition en fonction de la température et de la concentration en acide gibbéréllique.

Température en °C.	GA ₃ 1×10^{-4}	GA ₃ 3×10^{-4}	GA $6 \cdot 10^{-4}$
4	0,29	0,02	0,02
6	0,27	0,05	0,06
10	0,24	0,05	0,04
12	0,22	0,04	0,02
15	0,23	0,02	0
18	0,42	0,12	0,06
20	0,63	0,40	0,25
22	0,75	0,62	0,60

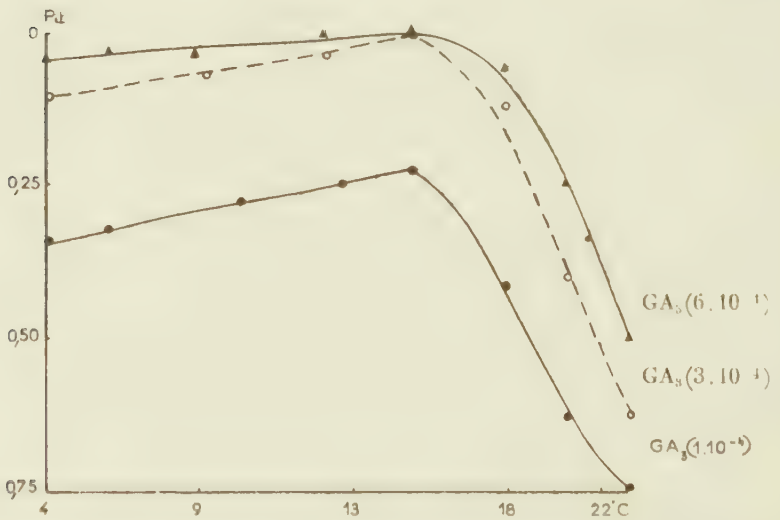


FIGURE 31. — Influence de l'acide gibbéréllique sur la photoinhibition de la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* par la lumière rouge sombre : importance de la température.

On peut se demander s'il est nécessaire de laisser, pendant tout le temps de la germination, les graines à la température de 15°C. Pour répondre à cette question l'expérience suivante est réalisée :

les graines, semées sur papier filtre humide, sont placées à 15°C, sur un milieu contenant une solution d'acide gibbérellique à 3×10^{-4} . Pendant toute l'expérience les graines sont exposées à la lumière rouge sombre. Les résultats sont résumés dans le tableau XXXIII et traduits par la figure 32.

TABLEAU XXXIII

Influence de l'acide gibbérellique, à la température de 22°C, sur la photoinhibition provoquée par la lumière rouge sombre : influence de la durée d'une période à 15°C précédant l'action de l'acide gibbérellique.

heures à 15°C avant transfert à 22°C	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Pit	0,62	0,60	0,63	0,60	0,52	0,40	0,22	0,10	0

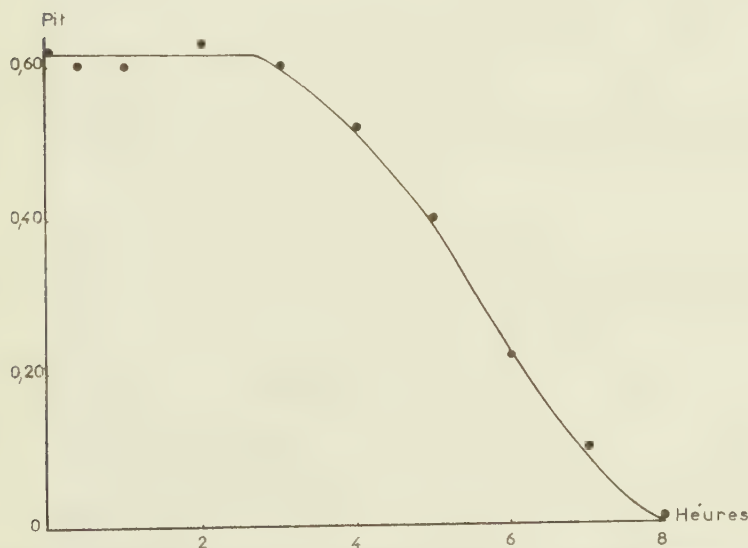


FIGURE 32. — Influence de l'acide gibbérellique sur la photoinhibition de la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*, à 22° C, par lumière sombre : importance d'une période de quelques heures à 15° C.

Cette expérience démontre que l'acide gibbérellique peut annihiler la photoinhibition à 22° C si les graines sont placées, dès le début de l'humidification, pendant 8 heures à 15°C.

Cet ensemble de résultats peut être ainsi résumé : l'acide gibbérellique supprime l'effet inhibiteur de la lumière rouge sombre. Cette action est surtout nette à 15°C. Si la température de l'expérience dépasse 15°C, l'influence de l'acide gibbérellique diminue sensiblement. Cette exigence vis à vis du facteur température n'est cependant pas liée directement à l'action de l'acide gibbérellique. En effet, l'acide gibbérellique est capable de faire germer, à 22°C, des graines exposées à la lumière rouge sombre à condition que celles-ci soient placées à 15°C, dès le début de l'humidification, pendant une période comprise entre 4 et 8 heures. Pendant ce temps, il semble se produire dans les graines des réactions qui permettent ensuite l'action de l'acide gibbérellique.

— *acide gibbérellique (GA₃) et acide indolylacétique (AIA).*

Les graines humidifiées et placées 8 heures à l'obscurité, sont ensuite transférées sur un milieu contenant de l'acide gibbérellique à 3 ou 6 x 10⁻⁴ et de l'acide indolylacétique à une concentration variant entre 10⁻⁷ et 10⁻³. A partir de ce moment-là les graines sont exposées à un éclairciment continu de lumière rouge sombre. D'autres lots de graines sont utilisés pour analyser l'action de l'acide indolylacétique seul. La température de l'expérience est de 22°C. Les résultats obtenus (tableau XXXIV et figure 33) montrent que l'acide indolylacétique seul ne modifie pas la photoinhibition. A des concentrations supérieures à 10⁻⁴ l'acide indolylacétique inhibe la germination de toutes les graines. L'action combinée de l'acide

TABLEAU XXXIV

Influence de l'acide gibbérellique (GA₃) et de l'acide indolylacétique (AIA) sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à la lumière rouge sombre.

	Acide indolylacétique								
	0	10 ⁻⁷	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	3x10 ⁻⁵	10 ⁻³
GA ₃ 6x10 ⁻⁴	0,60	0,62	0,60	0,29	0,15	0,03	0,04	INHIBITION de la Germination	
GA ₃ 3x10 ⁻⁴	0,62	0,64	0,48	0,40	0,33	0,20	0,22		
pas de GA ₃	0,75	0,77	0,74	0,75	0,73	0,75	0,74		

gibbérèllique et de l'acide indolylacétique élimine presque totalement la photoinhibition ($Pit = 0,04$). Dans tous les cas la concentration optimale d'acide indolylacétique est de 3×10^{-4} .

La germination des graines exposées à un éclaircment continu de lumière rouge sombre se produit à 22°C en présence d'acide gibbérèllique et d'acide indolylacétique et à 15°C en présence uniquement d'acide gibbérèllique. Les variations dans le comportement des graines semblent avoir pour origine des différences dans leur teneur en auxines.

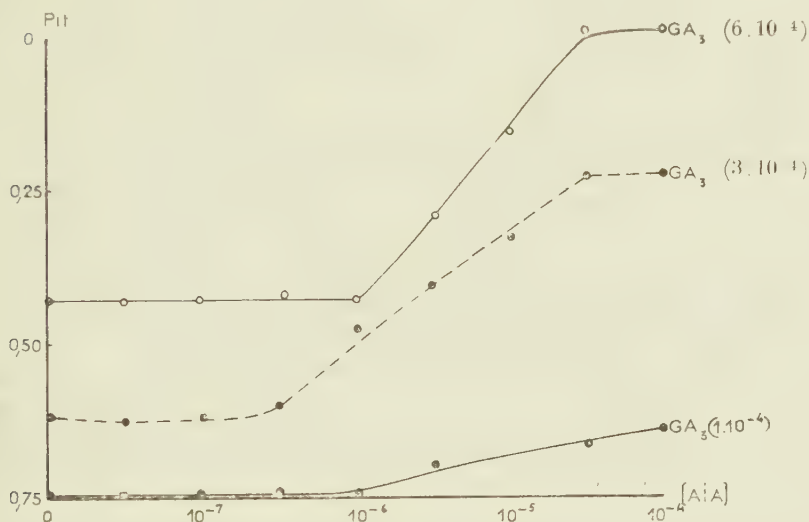


FIGURE 33. — Action combinée de l'acide gibbérèllique et de l'acide indolylacétique sur la germination de graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclaircment continu de lumière rouge sombre.

e) *détermination et évolution des substances de croissance présentes dans les graines.* — La Figure 34 a représente un histogramme obtenu à partir d'extraits correspondant à 10 grammes de graines sèches. Elle montre que ces graines contiennent une seule substance de croissance de Rf compris entre 0,40 et 0,45.

Les histogrammes exposés dans les figures 34 b, c, d, et e sont obtenus à partir d'extraits provenant de 10 grammes de graines humidifiées et placées à 15°C pendant 5, 6, 10 et 16 heures.

Les résultats obtenus permettent d'observer que la substance de Rf 0,45 (substance A) est toujours présente et que sa concentration reste constante.

Deux autres substances de croissance apparaissent dans les graines après leur humidification : la substance B de Rf égal à 0,55 et la substance C de Rf 0,75.

Les courbes de la figure 34 f représentent l'évolution de la concentration de ces trois substances au cours de la germination à 15°C.

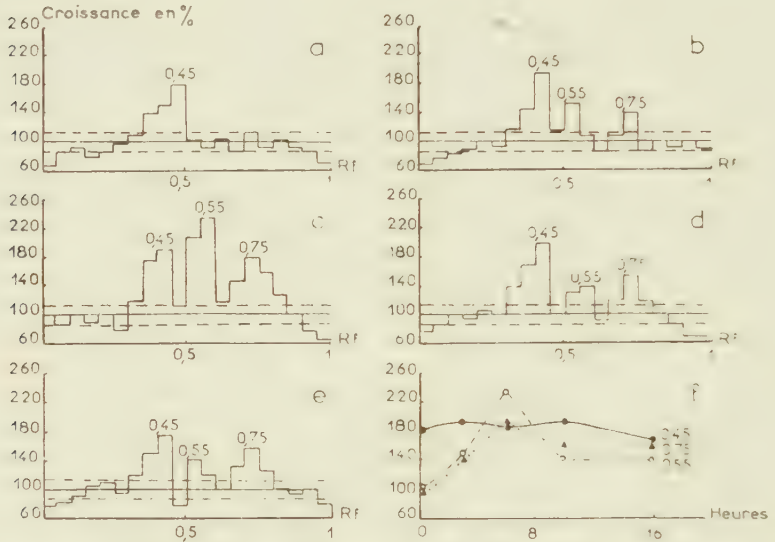


FIGURE 34. — Histogrammes obtenus avec des extraits de graines de *Phacelia tanacetifolia* (10 g. de graines broyées) mises à germer à 15° C. a = graines sèches ; b = 3 heures à 15° C ; c = 6 heures à 15° C ; e = 12 heures à 15° C.

Les histogrammes des figures 35 b, c, d et e montrent l'évolution des substances de croissance lorsque les graines germent à 22°C.

On observe une disparition rapide de la substance A puisque, 6 heures après le début de l'humidification il n'est plus possible d'en déceler la moindre trace.

Les substances B et C apparaissent après humidification des graines. Leur évolution est identique à 15°C et à 22°C (figures 34 f et 35 f).

Ces résultats nécessitent des expériences complémentaires telles que les graines soient exposées à des températures différentes (10 et 30°C).

À 10°C les résultats sont identiques à ceux obtenus à 15 °C.

À 30°C la disparition de la substance A se produit aussi rapidement qu'à 22°C. C'est ce que montrent les histogrammes de la figure 36.

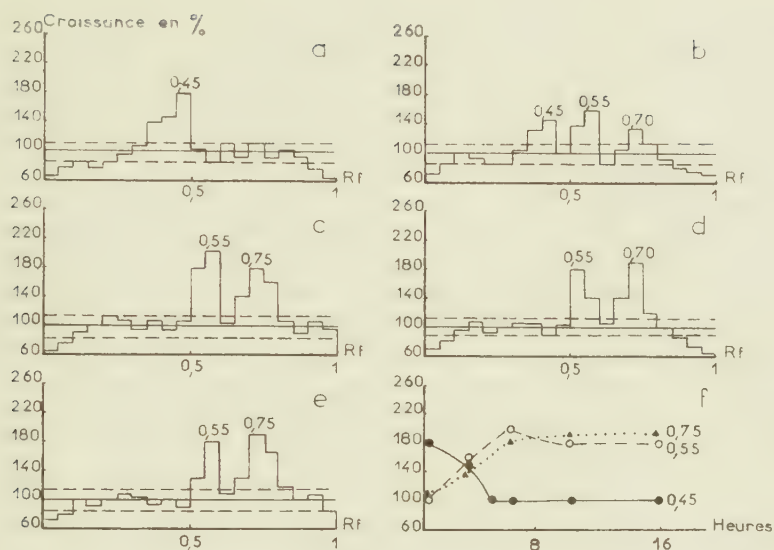


FIGURE 35. — Histogrammes obtenus avec des extraits de graines de *Phacelia tanacetifolia* (10 g. de graines broyées) mises à germer à 22° C. a = graines sèches ; b = 3 heures à 22° C ; c = 6 heures à 22° C, d = 9 heures à 22° C ; e = 12 heures à 22° C.

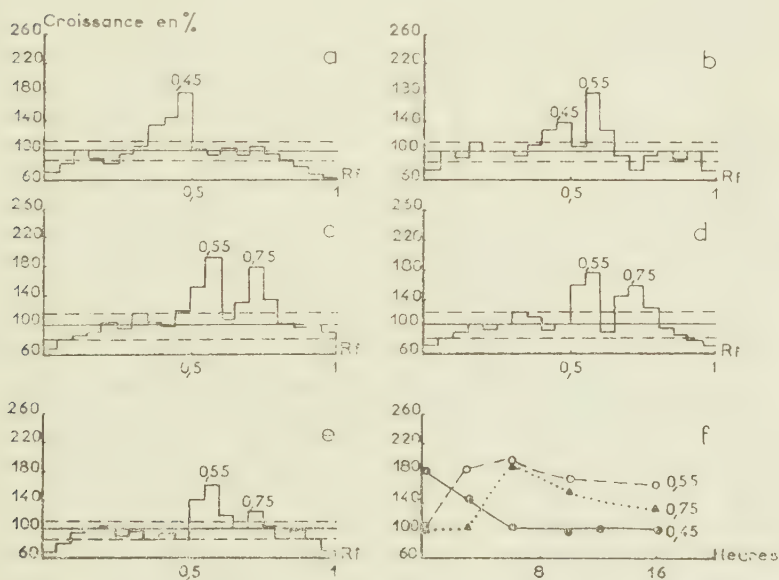


FIGURE 36. — Histogrammes obtenus avec des extraits de graines de *Phacelia tanacetifolia* (10 g. de graines broyées) mises à germer à 30° C. a = graines sèches ; b = 3 heures à 30° C ; c = 6 heures à 30° C ; d = 9 heures à 30° C ; e = 12 heures à 30° C.

Il existe chez les graines de *Phacelia tanacetifolia* une substance de croissance dont l'évolution est fonction de la température ; son activité demeure constante pendant toute la germination si la température est inférieure ou égale à 15° C ; par contre, à température supérieure ou égale à 22°C, sa concentration diminue ; 6 heures après le début de l'humidification des graines, cette substance a totalement disparu.

Il est possible de comparer ces résultats avec ceux obtenus lors de l'étude de l'action de la lumière rouge sombre sur la germination : l'inhibition se produit au début de la troisième phase c'est-à-dire à partir de la huitième heure : l'acide gibbérellique permet la germination à 15°C de graines exposées à un éclairage continu de lumière rouge sombre : les mêmes résultats sont obtenus à 22°C par une action combinée de l'acide gibbérellique et de l'acide indolylacétique.

Cette nécessité d'ajouter de l'acide indolylacétique au milieu de germination est liée à la disparition de la substance de croissance A chez les graines mises à germer à 22° C.

On peut donc penser qu'à toutes les températures l'acide gibbérellique agit en synergisme avec une auxine, qui sera soit exogène (à 22°C), soit endogène (à 15°C).

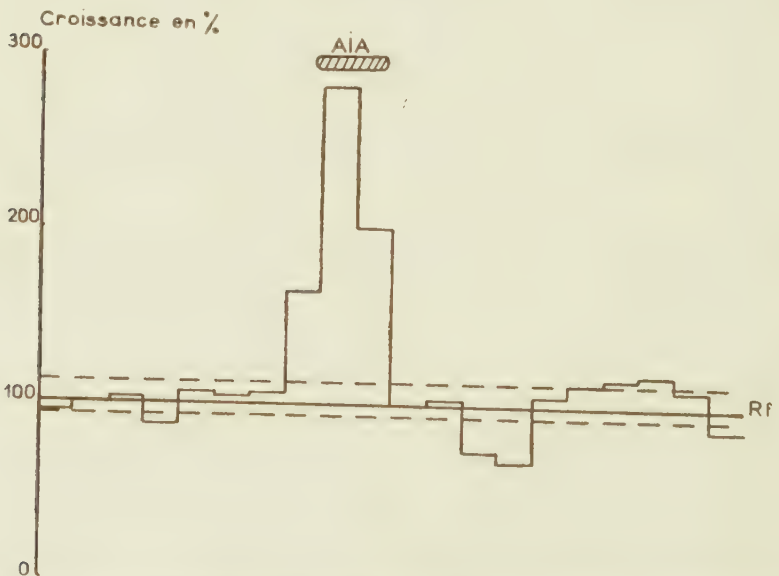


FIGURE 37. — Histogramme de la fraction acide d'un extrait méthanolique de graines de *Phacelia tanacetifolia*.

Il reste donc à démontrer que la substance A est une auxine.

Une extraction est réalisée à partir de 1 kg de graines par du méthanol pur. L'extrait est séparé en fraction acide et en fraction neutre.

La chromatographie de la fraction acide permet de déceler la présence de la substance A. Celle-ci se comporte donc comme un acide. De plus elle a un Rf identique à celui de l'acide indolylacétique (figure 37), et présente une coloration violette avec le réactif d'EHRLICH et rouge avec le réactif de SALKOWSKI.

La substance A est donc de nature auxinique mais il faudrait une étude de l'absorption en ultra violet pour l'identifier. Le manque de matériel n'a pas permis ces recherches.

La chromatographie de la fraction neutre permet de déceler la présence des substances B et C. Seule la substance B donne des réactions colorées caractéristiques avec les réactifs d'EHRLICH (violet) et de SALKOWSKI (rose).

f) *conclusions.* — L'étude des facteurs modifiant l'inhibition due à la lumière rouge sombre montre que son action est indépendante de la température et de la présence d'oxygène.

La scarification mécanique des téguments au niveau de la radicule permet la germination de toutes les graines même après une longue exposition à la lumière rouge sombre. Seule la région radiculaire est sensible à la lumière. Il semble que la suppression du tégument au niveau de la radicule élimine les tissus contenant le photorécepteur.

L'influence des fortes tensions d'oxygène est nette si elle peut s'exercer sur les graines avant que la réaction de photoinhibition ne se soit produite.

L'acide gibbéréllique peut supprimer la photoinhibition mais dans les conditions suivantes : son action doit se produire avant la réaction d'inhibition et la température doit être de 15°C, du moins au cours des huit premières heures qui suivent le début de l'humidification. Toutefois l'acide gibbéréllique peut avoir les mêmes effets à 22°C, mais dans ce cas la présence d'acide indolylacétique est nécessaire.

Les graines sèches de *Phacelia tanacetifolia* contiennent une substance de croissance de Rf = 0,45. Cette substance demeure présente si les graines, humidifiées, sont placées à 15°C. Par contre à 22°C, il n'y en a plus de traces six heures après le début de l'humidification. Ces faits pourraient expliquer les résultats des expériences de photomorphogénèse. La substance A présente les réactions colorées caractéristiques du noyau indol et un Rf égal à celui de l'acide indolylacétique.

3. — FACTEURS MODIFIANT LA PHOTOINHIBITION DUE A LA LUMIÈRE BLEUE.

L'influence de la lumière bleue et celle de la lumière rouge sombre présentent de grandes analogies. Il conviendrait donc de préciser si certains des facteurs, qui modifient la photoinhibition due à la lumière rouge sombre, agissent dans le même sens sur la photoinhibition provoquée par la lumière bleue.

a) *influence de la température.* La température de l'expérience est comprise entre 5 et 22°C. Les graines sont humidifiées et exposées à un éclaircment continu de lumière bleue de 35 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. La photoinhibition demeure toujours constante et égale à 0,50.

b) *influence de l'acide gibbérellique.* Les graines, humidifiées, sont placées pendant 8 heures à l'obscurité puis transférées sur un milieu contenant de l'acide gibbérellique à des concentrations variant entre 10^{-6} et 10^{-3} . Les graines sont alors exposées à un éclaircment continu de lumière bleue de 35 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. La température de l'expérience est de 22°C. Les résultats, exprimés dans le tableau XXXV, montrent que l'acide gibbérellique permet la germination d'un certain nombre de graines. Cet effet est cependant assez faible.

TABLEAU XXXV

Influence de l'acide gibbérellique sur la germination à 22° C de graines exposées à un éclaircment de lumière bleue*.

concentration						
$\times 10^{-5}$	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	3×10^{-4}	6×10^{-4}	10^{-3}
Pit	0,48	0,47	0,48	0,42	0,38	0,38

* lumière bleue : 400-480 m μ ; 35 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

La température modifie l'action de l'acide gibbérellique : à 15°C l'inhibition est nulle (Pit = 0,03).

c) *influence de l'acide gibbérellique et de l'acide indolylacétique.* Des graines conservées pendant 8 heures à l'obscurité sont semées sur un milieu contenant de l'acide gibbérellique (3×10^{-4}) et de l'acide indolylacétique (concentration variant entre 10^{-7} et 10^{-3}). Elles sont alors exposées à un éclaircment continu de lumière

bleue de $35 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. La température de l'expérience est de 22°C . Les résultats sont réunis dans le tableau XXXVI et traduits par la figure 38.

TABEAU XXXVI

Influence de l'acide gibbérellique* et de l'acide indolylacétique sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairage continu de lumière bleue**.

concentra- tion en AIA	0	10^{-7}	5×10^{-7}	10^{-6}	5×10^{-6}	10^{-5}	5×10^{-5}	10	5×10^{-4}	10^{-3}
Pit	0,48	0,49	0,42	0,35	0,27	0,20	0,05	0	inhibition totale de la germination	

* acide gibbérellique : 3×10^{-4} ; ** lumière bleue : 400-480 m μ ; $35 \mu\text{w}/\text{cm}^2$.

L'acide indolylacétique seul n'a aucune action sur la photoinhibition. L'acide gibbérellique et l'acide indolylacétique ont un effet synergique qui provoque la germination de toutes les graines exposées à la lumière bleue. (Figure 38).

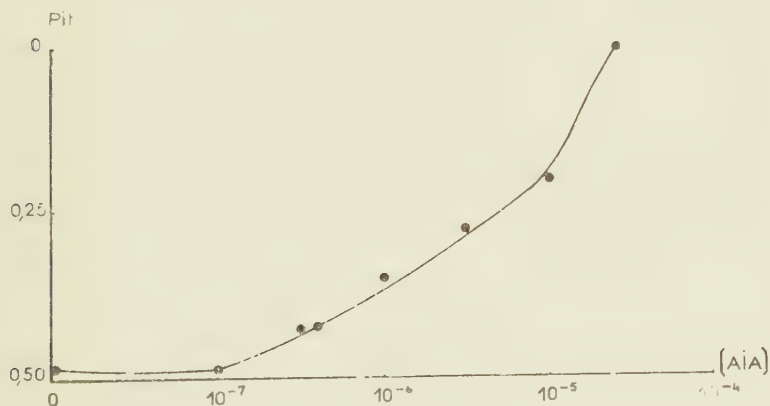


FIGURE 38. — Action combinée de l'acide gibbérellique et de l'acide indolylacétique sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairage continu de lumière bleue.

d) *Scarification mécanique des téguments.* La scarification des téguments pratiquée au niveau de la radicule permet la germination de toutes les graines lorsqu'elles sont exposées à un éclairage continu de lumière bleue.

e) *Conclusions.* L'étude des facteurs qui modifient la photoinhibition déclenchée par la lumière bleue démontre encore davantage l'analogie qui existe entre l'action de cette lumière et celle de la lumière rouge sombre : la photoinhibition est indépendante de la température ; elle est supprimée par la scarification mécanique des téguments.

L'influence de l'acide gibbéréllique dépend de la température : à 15° C, il détermine la germination de toutes les graines exposées à un éclairciment continu de lumière bleue. Son action est faible à 22°C ; la germination nécessite alors la présence d'acide gibbéréllique et d'acide indolylacétique.

4. — FACTEURS MODIFIANT LA PHOTOINHIBITION DUE A LA LUMIERE ROUGE (600-800 mμ).

Les lumières rouge clair et rouge sombre inhibent la germination. Cependant leurs actions ne sont pas additives et il semble même qu'elles soient antagonistes.

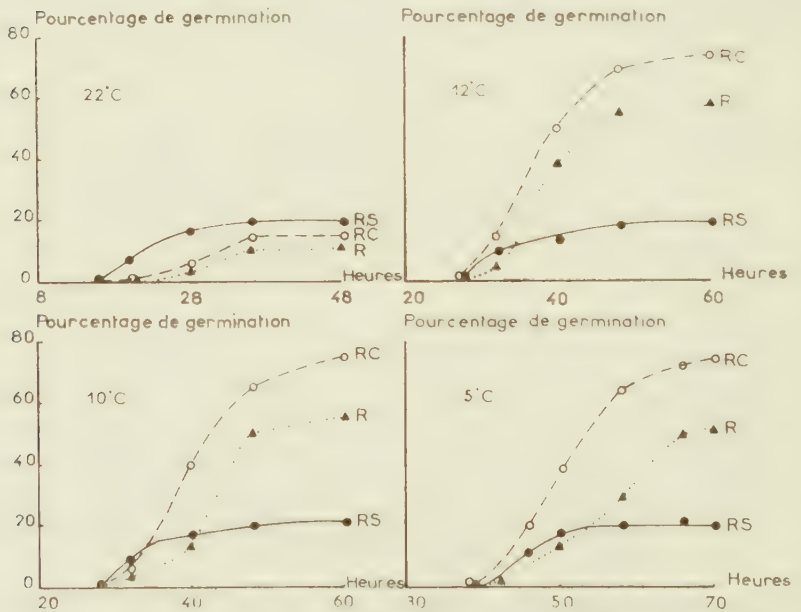


FIGURE 39. — Influence de la température sur l'inhibition de la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* par les lumières rouge (R) rouge clair (R.C.) et rouge sombre (R.S.).

L'étude de l'influence de quelques facteurs sur l'inhibition provoquée par la lumière rouge peut donner des indications sur l'action combinée des lumières rouge clair et rouge sombre.

a) *Influence de la température.* — Les graines sont exposées à un éclairage continu de lumière rouge de $100 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. La température de l'expérience est de 5, 10, 15 ou de 22°C . Les courbes de pourcentage de germination en fonction du temps sont représentées dans la figure 39 et sont comparées aux mêmes courbes obtenues en lumières rouge clair et rouge sombre. Le pourcentage de germination obtenu est plus faible qu'en lumière rouge clair mais plus élevé qu'en lumière rouge sombre.

b) *Influence de l'acide gibbérellique.* Les graines sont humidifiées par une solution d'acide gibbérellique à 10^{-4} et sont exposées à un éclairage continu de lumière rouge. Dans ces conditions, 48 % des graines germent, alors qu'en lumière rouge clair le pourcentage de germination est de 80%, et en lumière rouge sombre de 14 % (figure 40).

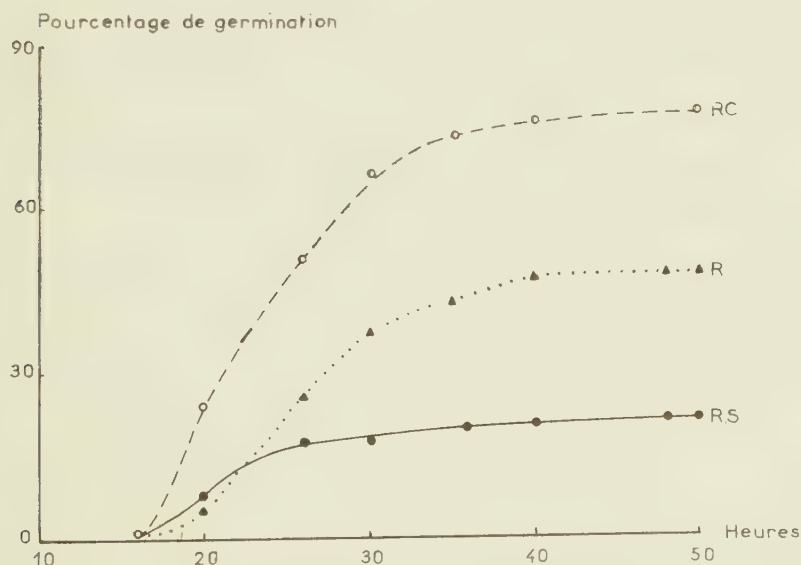


FIGURE 40. — Influence de l'acide gibbérellique (10^{-4}) sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* exposées à un éclairage continu de lumière rouge, rouge clair, ou rouge sombre.

c) *Conclusions.* Les expériences confirment l'existence d'un antagonisme entre les lumières rouge clair et rouge sombre, mais ne permettent pas de préciser sa nature.

E. Conclusions sur la photoinhibition de la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*.

La lumière inhibe la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*. Pour mettre en évidence cette photoinhibition il est nécessaire d'exposer les graines à un éclairage continu. De plus la température doit être égale ou inférieure à 22°C. Au dessus de 22°C il se produit une autre inhibition due à la température et sans relation avec la lumière.

Dès que les graines de *Phacelia tanacetifolia* sont mises en contact avec l'eau, elles s'hydratent. L'augmentation du poids s'accompagne d'une élévation de l'intensité respiratoire. Ces phénomènes durent environ trois heures et constituent la première phase de germination ou phase d'hydratation.

Dès la fin de cette phase les graines deviennent sensibles à la lumière rouge clair (660 mμ). Le maximum de sensibilité se situe entre la troisième et la quatrième heure qui suivent le début de l'humidification. Si pendant cette période les graines sont placées à l'obscurité, l'inhibition ne se produit pas. Bien qu'elle se manifeste à un moment précis de la germination, l'action de la lumière rouge clair nécessite un éclairage continu.

La photoinhibition est une fonction linéaire de l'éclairement. Son maximum est atteint pour un éclairage de 12 μw/cm². Cependant, dans ce cas, 15 % des graines germent.

La photoinhibition des autres graines est conditionnée par la température et la composition de l'atmosphère.

Entre 22 et 10° C la photoinhibition diminue avec l'abaissement de la température. D'autre part, elle ne se produit pas si la teneur en oxygène de l'atmosphère est faible (1 %).

L'acide gibbéréllique à faible concentration (10⁻⁶-10⁻⁵) peut produire la germination même après une longue exposition à la lumière.

Si les graines ne sont pas exposées à la lumière ou si l'éclairement cesse, la germination entre dans une deuxième phase dite phase pré-germinative dont la durée varie, suivant les graines, entre 5 heures et 10 heures. Au cours de cette période, la germination n'est pas influencée par la lumière.

La fin de cette phase est marquée par une augmentation de l'intensité respiratoire. De plus les graines deviennent à nouveau sensibles à la lumière. C'est ainsi que débute la dernière phase de la germination (phase germinative).

Si les graines sont exposées à la lumière dès le commencement de cette phase, la germination ne se produit pas. Les lumières rouge sombre (710 m μ) et bleue (440 m μ) sont actives.

Dans ce cas, une excitation continue du photorécepteur est également indispensable.

Les graines sont environ seize fois plus sensibles à la lumière rouge sombre qu'à la lumière bleue. Il se peut que les pigments chlorophylliens et les caroténoïdes, présents dans les téguments, forment un écran à la lumière bleue.

La photoinhibition par les lumières rouge sombre et bleue est indépendante de la température et peut se produire même en l'absence d'oxygène.

L'acide gibbérellique joue ici un rôle très important : à température inférieure ou égale à 15° C, les graines, humidifiées par une solution d'acide gibbérellique, germent si elles sont exposées à un éclaircment continu de lumière rouge sombre ou bleue ; le même résultat est obtenu à 22° C par une action synergique de l'acide gibbérellique et de l'acide indolylacétique.

La stimulation de la germination par ces substances nécessite que leur action précède la réaction de photoinhibition.

Les résultats de nos expériences démontrent que l'action de l'acide gibbérellique est de nature identique à 15° C et à 22° C ; cependant, à 15° C, le synergisme a lieu entre l'acide gibbérellique et une auxine endogène. Celle-ci est rapidement détruite à 22° C ce qui oblige à un apport d'auxine exogène pour l'obtention de la germination.

Si la photoinhibition ne se produit pas, la radicule croît et perce les téguments ; la germination est alors terminée ; la croissance de la plantule commence.

L'inhibition de la germination est relativement faible si les graines sont exposées à un éclaircment continu de lumière rouge (600-800 m μ) ; elle est toujours inférieure à celle que l'on obtient par un éclaircment continu de lumière rouge clair (630-680 m μ) ou rouge sombre (700-750 m μ). Il semble qu'indépendamment de son action inhibitrice, la lumière rouge sombre puisse diminuer l'effet de la lumière rouge clair.

II. - La photoinhibition de la germination des graines de *Nemophila insignis*

L'étude de la germination des graines de *Nemophila insignis* est entreprise pour vérifier un certain nombre de faits mis en évidence chez les graines de *Phacelia tanacetifolia*.

Précisons l'influence de la température sur la germination avant d'étudier la photoinhibition.

A. — Influence de la température.

Les graines, humidifiées, sont placées à l'obscurité à une température constante comprise entre 5 et 30° C. Les résultats figurent dans le tableau XXXVII.

TABLEAU XXXVII

Influence de la température sur la germination des graines de *Nemophila insignis*.

température en °C	5	8	10	15	18	20	22	24	27	30
% de germination	100	100	100	100	100	90	32	4	0	0

Toutes les graines germent si la température est inférieure à 20° C. Au-dessus de 20° C le pourcentage de germination diminue si la température s'élève. L'inhibition de la germination est presque totale à partir de 24° C.

A 15° C les premières germinations se produisent à la 26^{me} heure et les dernières à la 42^{me} heure (figure 41).

Il est nécessaire de préciser maintenant si la germination présente des phases bien distinctes.

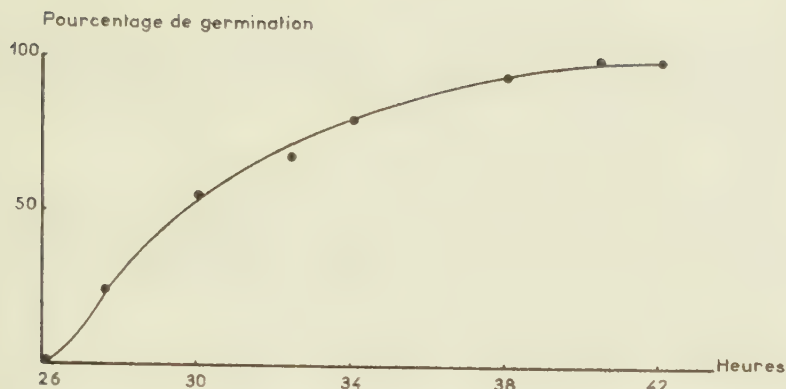


FIGURE 41. — Pourcentage de germination des graines de *Nemophila insignis* en fonction du temps.

B. — Les phases de la germination.

Le processus expérimental utilisé est le même pour les graines de *Nemophila insignis* et *Phacelia tanacetifolia* ; il consiste à faire

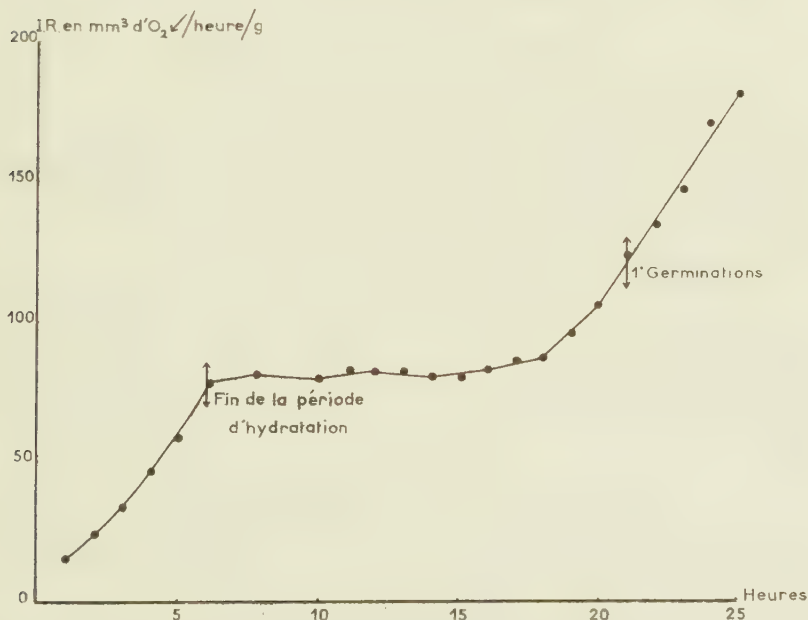


FIGURE 42. — Evolution de l'intensité respiratoire (I.R.) des graines de *Nemophila insignis*. — Pourcentage de germination en fonction du temps.

une étude de l'hydratation et de l'évolution de l'intensité respiratoire des graines au cours de la germination et à examiner l'aspect histologique des radicules. Pour toutes ces expériences la température de la germination est de 15° C.

Il est possible ainsi de distinguer trois phases :

1) *la phase d'hydratation*. Elle est caractérisée par une augmentation du poids de matière fraîche des graines. L'intensité respiratoire suit une évolution parallèle. Cette phase dure 9 heures.

2) *la phase prégerminative* pendant laquelle les graines ne présentent aucun phénomène important. Le poids de matière fraîche n'évolue plus ; l'intensité respiratoire demeure constante.

3) *la phase germinative*. Elle débute par une augmentation de l'intensité respiratoire (20^{ème} heure) et cesse lorsque la radicule a percé les téguments. La croissance de la radicule se fait uniquement par élongation de ses cellules (42^{ème} heure).

On peut examiner maintenant l'influence de la lumière sur la germination.

C. Action quantitative et qualitative de la lumière.

1. — Influence de la lumière rouge clair.

La lumière rouge clair n'a aucune influence sur la germination à la température de 15° C. Par contre, à la température de 20° C, une exposition continue à un éclairage de lumière rouge clair inhibe partiellement la germination (Pit = 0,51).

On retrouve, semble-t-il, le même type d'inhibition que chez les graines de *Phacelia tanacetifolia*.

Cependant l'étude de ce type de photoinhibition est très difficile à réaliser chez les graines de *Nemophila insignis* parce qu'elles sont très sensibles au facteur température. Si celle-ci dépasse 20° C, le pourcentage de germination à l'obscurité baisse sensiblement ce qui fausse la détermination de l'intensité de la photoinhibition (Pit).

2. — Influence de la lumière rouge sombre.

On précisera tout d'abord la relation qui lie la photoinhibition et le niveau d'éclairement.

a) relation entre photoinhibition et niveau d'éclairement.

Les graines, dès le début de l'humidification, sont soumises à un éclairage continu de lumière rouge sombre variant entre 0,5

et $8 \mu\text{w/cm}^2$. Les résultats obtenus (Tableau XXXVIII et figure 43) indiquent que la photoinhibition est une fonction linéaire du logarithme de l'éclairement.

TAB. XXXVIII

Influence de la lumière rouge sombre * sur la germination des graines de *Nemophila insignis* : relations entre la photoinhibition et le niveau d'éclairement.

éclairement en $\mu\text{w/cm}^2$	0,5	1	1,6	2	2,4	3,1	4	5	6	7
Pit	0,34	0,39	0,56	0,66	0,71	0,78	0,84	0,87	0,86	0,88
	$\pm 0,04$	$\pm 0,02$	$\pm 0,05$	$\pm 0,04$	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$	$\pm 0,05$	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$	$\pm 0,04$

* lumière rouge sombre : 700-750 m μ .

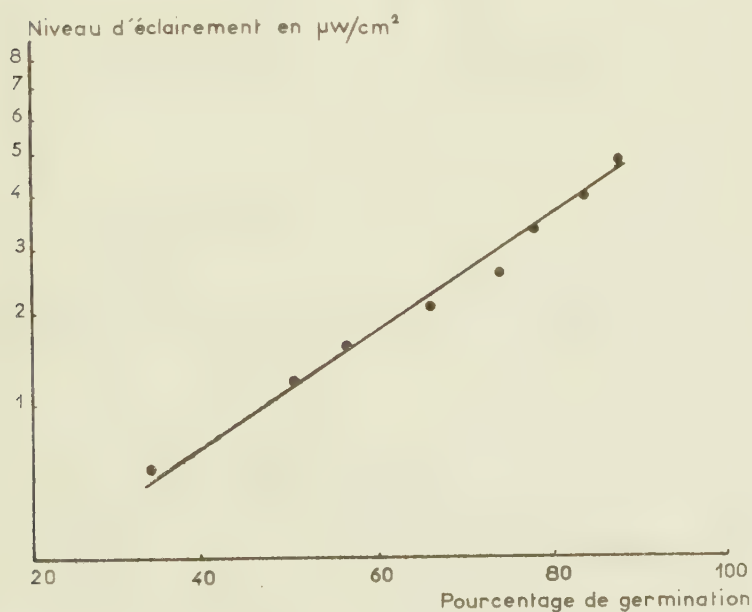


FIGURE 43. — Influence de la lumière rouge sombre sur la germination des graines de *Nemophila insignis* : relation entre photoinhibition et niveau d'éclairement.

b) *phase de la germination contrôlée par la lumière rouge sombre.* Des expériences sont réalisées pour préciser à quel moment agit la lumière rouge sombre.

Les graines sont placées pendant un certain nombre d'heures à l'obscurité, puis sont exposées à un éclairage continu de lumière rouge sombre de $5 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. La température de l'expérience est de 15°C . Le tableau XXXIX résume les résultats obtenus.

TABLEAU XXXIX

Photoinhibition par la lumière rouge sombre * en fonction de la durée de la période obscure qui précède l'exposition à la lumière.

Durée de la période obscure en heures	Pit	Durée de la période obscure en heures	Pit
0	0,87	20	0,84
1	0,83	22	0,74
2	0,82	24	0,65
4	0,86	26	0,56
8	0,86	28	0,49
10	0,85	31	0,41
12	0,86	40	0,28
16	0,84	36	0,01
18	0,89	34	0

* lumière rouge sombre : 700-750 m μ ; $5 \mu\text{w}/\text{cm}^2$.

Si l'on considère un lot de 100 graines, on constate que la photoinhibition diminue, si la durée de la période d'obscurité excède 20 heures, et devient nulle après 36 heures. Or l'examen de la courbe de la figure 41 indique que les premières germinations se produisent à la 26^{me} heure et les dernières à la 42^{me} heure. D'autre part, l'augmentation de l'intensité respiratoire qui marque le début de la 3^{me} phase de la germination apparaît nettement à la 20^{me} heure. Il est donc possible de conclure que les graines sont sensibles à la lumière rouge sombre au début de la troisième phase de la germination. La comparaison des figures 41 et 44 montre également que la 3^{me} phase a une durée à peu près identique pour toutes les graines. La germination arrive à ce stade en un temps plus ou moins long suivant les graines parce que la durée de la phase prégerminative est variable.

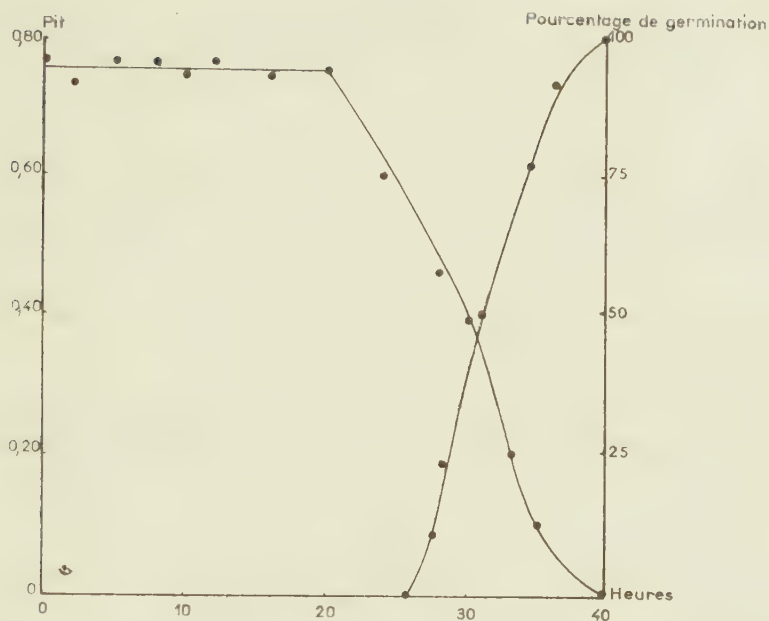


FIGURE 44. — Inhibition de la germination par un éclaircment continu de lumière rouge sombre en fonction de la durée de la période obscure précédant l'exposition à la lumière.
Pourcentage de germination en fonction du temps.

3) Influence de la lumière bleue

La lumière bleue inhibe partiellement la germination ($Pit = 0.64$) du moins avec les niveaux d'éclaircment utilisés ($34 \mu w/cm^2$).

Cette inhibition est indépendante de la température et ne se produit pas si les graines, humidifiées, sont placées 36 heures à l'obscurité avant d'être exposées à un éclaircment de lumière bleue.

D. Facteurs modifiant l'action de la lumière.

Notre étude porte exclusivement sur l'influence de l'acide gibbérellique et de l'acide indolylacétique sur la germination de graines exposées à un éclaircment continu de lumière rouge sombre.

1. — Influence de l'acide gibbérellique

Les graines, humidifiées par l'eau ou par une solution gibbérellique, sont exposées à un éclaircment continu de lumière rouge

sombre de 66w cm². La température de l'expérience est de 15 ou 20° C. Les résultats figurent dans le tableau XL.

TABLEAU XL

Influence de l'acide gibbérellique sur la germination de graines de *Nemophila insignis* exposées à un éclaircissement continu de lumière rouge sombre *.

Solution	Température en ° C	Pit
eau	15	0,77
GA ₃ (10 ⁻⁴)	15	0,37
eau	20	0,76
GA ₃ (10 ⁻⁴)	20	0,70

* lumière rouge sombre : 700-750 mμ, 6 μw/cm².

Si la température est de 15° C, une solution d'acide gibbérellique à la concentration de 10⁻⁴ diminue la photoinhibition d'environ 50 %. Cette même solution n'a aucun effet si la température est de 20° C.

2. — Influence de l'acide indolylacétique.

L'acide indolylacétique ne modifie pas la photoinhibition. A des concentrations élevées (10⁻⁶), il inhibe la germination à l'obscurité.

3. — Influence de l'acide gibbérellique et de l'acide indolylacétique

A la température de 20° C, l'action combinée de l'acide gibbérellique (10⁻⁴) et de l'acide indolylacétique (10⁻⁴) empêche la photoinhibition de la germination alors que chacune des substances, seule, n'a aucune action. Le tableau XLI en fournit l'exemple.

Comment expliquer que l'action de l'acide gibbérellique prise à 15° C produire les mêmes effets que l'action combinée de l'acide gibbérellique et de l'acide indolylacétique à 20° C ?

TABLEAU XII

Influence de l'acide gibbérellique (10^{-4}) et de l'acide indolylacétique sur la germination de graines exposées à un éclairage continu de lumière rouge.

concentration en acide indolylacétique	0	10^{-6}	5×10^{-6}	10^{-5}	5×10^{-5}	10^{-4}
Pit	0,75	0,72	0,74	0,54	0,32	0,05

L'origine de ces faits est peut-être la même pour les graines de *Nemophila insignis* et de *Phacelia tanacetifolia* : il y aurait une évolution différente des substances de croissance endogènes, à 15° C et à 20° C.

4. — Etude des substances de croissance endogènes *

L'extraction est réalisée par le méthanol à partir de 5 grammes de graines lyophilisées et broyées. La figure 45 représente un histogramme obtenu à partir de graines sèches. Deux substances de croissance de Rf respectivement égal à 0,45 (substance A) et à 0,85 (substance B) sont ainsi mises en évidence.

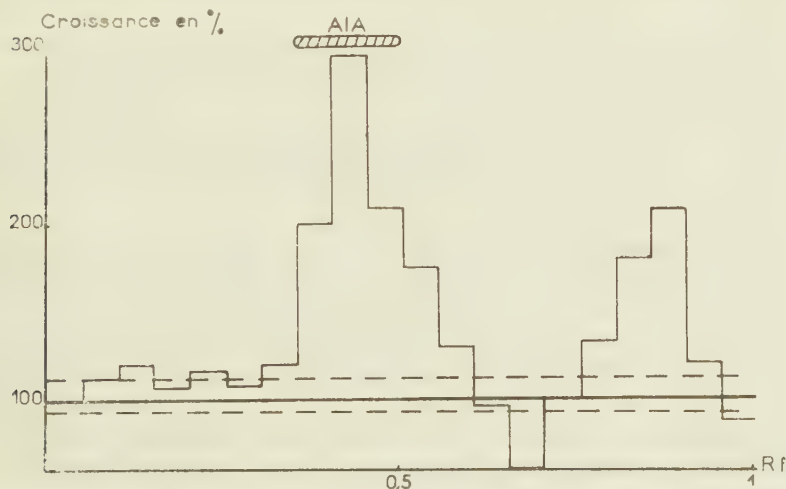


FIGURE 45. — Histogramme obtenu à partir d'un extrait méthanolique d'un broyat de 5 grammes de graines de *Nemophila insignis*. En ordonnée : croissance en pour cent par rapport au témoin.

* Travail effectué en collaboration avec E. FLEURY.

La chromatographie de la fraction acide et de la fraction neutre des extraits ainsi que diverses réactions colorées montrent que la substance A a même Rf que l'acide indolylacétique et présente une coloration violette avec le réactif d'Ehrlich et rouge avec le réactif de Salkowski. Seule la fraction acide des extraits contient cette substance. (Figure 46).

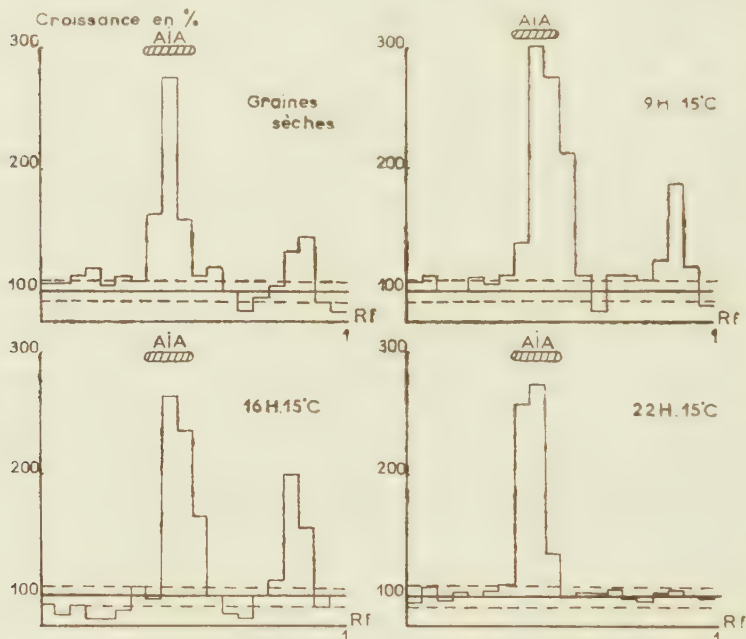


FIGURE 46. — Histogrammes obtenus à partir de la fraction acide d'un extrait méthanolique de graines de *Nemophila insignis* mises à germer à l'obscurité à 15° C.

La substance B donne une coloration rouge avec le réactif d'Ehrlich. Son comportement lors de la séparation des extraits en fractions acide et neutre, n'est pas nette puisque ces deux fractions présentent une activité biologique au Rf de 0,85. Il faut d'ailleurs remarquer que la somme des activités des fractions acide et neutre au Rf de 0,85 correspond à peu près à l'activité de l'extrait total au même Rf. Les différences observées, d'ailleurs faibles, sont imputables à l'imprécision de la méthode.

Examinons maintenant les résultats obtenus par chromatographie d'extraits de graines placées pendant 9 h, 16 h et 22 h à 15° C ou à 20° C. Le tableau XI.II et les figures 46 et 47 font la synthèse des résultats obtenus.

TABLEAU XLII

Influence des extraits de graines de *Nemophila insignis* mises à germer à 15° C et à 20° C sur la croissance des coléoptiles d'Avoine : croissance en pour cent par rapport au témoin en fonction du Rf.

Extraits provenant de graines	Rf = 0,45		Rf = 0,85	
	FA	FN	FA	FN
sèches	275	105	142	180
9 h à 15° C	290	109	187	190
16 h à 15° C	263	100	200	170
22 h à 15° C	270	106	95	137
9 h à 20° C	254	105	126	160
16 h à 20° C	190	103	112	141
22 h à 20° C	130	108	97	95

Si les graines sont placées à 15° C la teneur en substance A demeure à peu près constante ; par contre à 20° C elle diminue rapidement. Il n'en reste plus que des traces 22 heures après le début de l'humidification. (Figure 48).

On sait que vers la 26^{me} heure qui suit le début de l'humidification, la germination peut être inhibée par la lumière rouge sombre. La photoinhibition n'a pas lieu si les graines ont été mises à germer à 15° C sur un milieu contenant de l'acide gibbéréllique. A 20° C le même résultat est obtenu si l'acide indolylacétique et l'acide gibbéréllique entrent dans la composition du milieu de germination.

Il apparaît donc que l'action de l'acide gibbéréllique est la même qu'elle que soit la température. Dans tous les cas, l'action synergique de l'acide gibbéréllique et de l'acide indolylacétique permet la germination des graines exposées à la lumière rouge sombre. L'acide gibbéréllique agit en synergisme exogène à 20° C, endogène à 15° C, et avec l'acide indolylacétique exogène à 20° C.

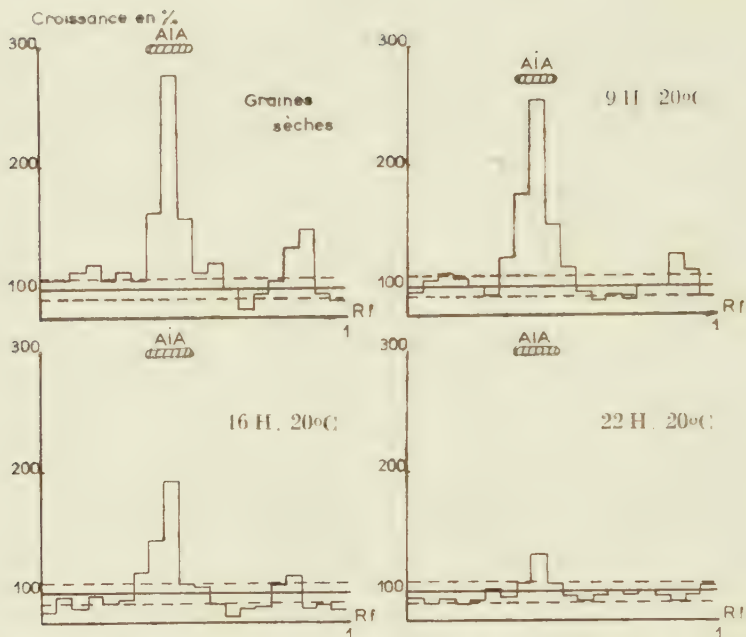


FIGURE 47. — Histogrammes obtenus à partir de la fraction acide d'un extrait méthanolique de graines de *Nemophila insignis* mises à germer à l'obscurité à 20° C.

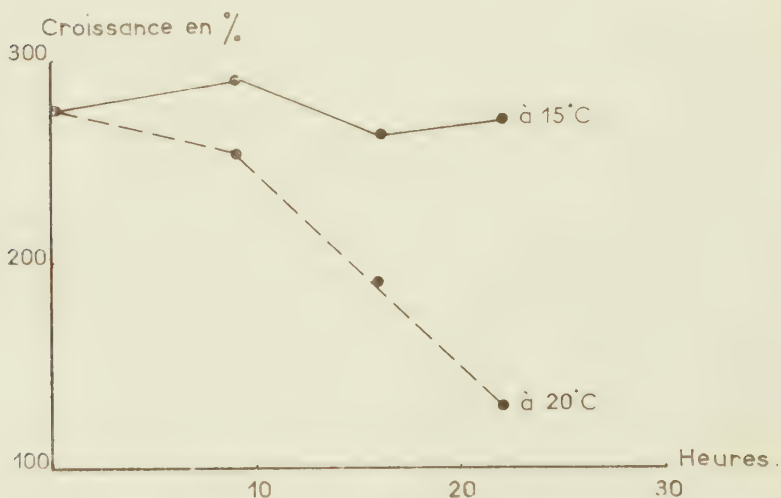


FIGURE 48. — Courbes montrant l'allure générale de l'évolution de la substance de croissance A des graines de *Nemophila insignis* au cours de la germination à 15° C et à 20° C.

Ces résultats laissent supposer que l'auxine endogène (substance A) pourrait être de l'acide indolylacétique.

On réalise alors une extraction des auxines par le méthanol à partir de 1 kg de graines. On sépare les fractions acide et neutre. La fraction acide est chromatographiée avec le solvant : isopropanol (100) ammoniacal (10) eau (10). La zone de Rf 0,40-0,50 est élue. Le spectre d'absorption en ultraviolet de l'éluat est déterminé. (Fig. 49, a). Il existe de nombreuses impuretés. Aussi l'éluat est repris et chromatographié avec le solvant : isobutanol (80) méthanol (5) eau (15). La substance A migre à un Rf de 0,80. L'éluat présente un spectre d'absorption en ultraviolet un peu plus net (Fig. 49, b). Il existe encore des impuretés.

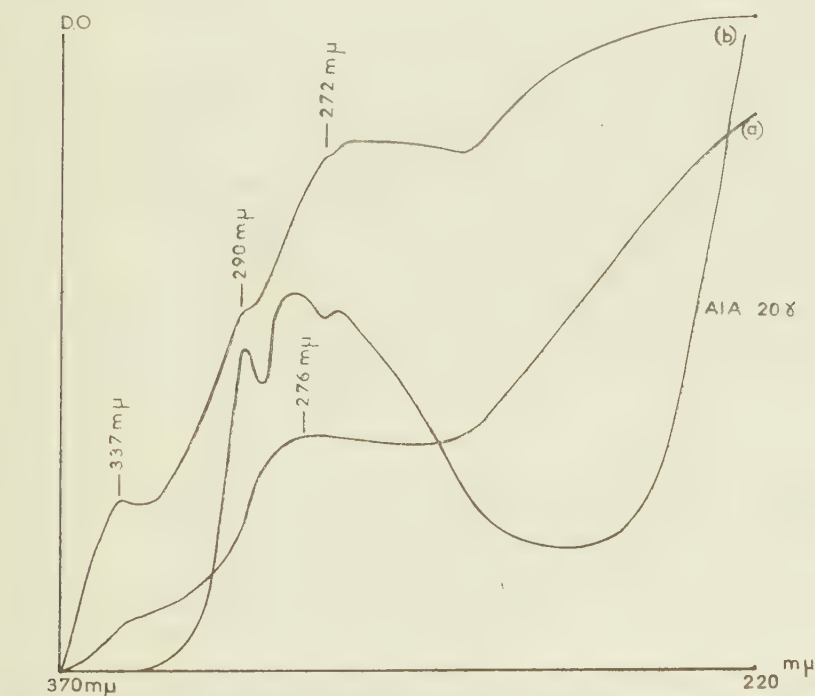


FIGURE 49. — Spectre d'absorption en ultraviolet de la substance A des graines de *Nemophila instans*.

Il ne nous a pas été possible de poursuivre plus loin nos recherches. En effet au cours de chacune de ces manipulations l'éluat devient de moins en moins riche en substance A. Pour être sûr de pouvoir terminer les manipulations de purification il faudrait partir d'une dizaine de kg de graines. Une telle quantité n'était pas à notre disposition.

E. Conclusions sur la photoinhibition de la germination des graines de *Nemophila insignis*.

La germination des graines de *Nemophila insignis* présente trois phases : la phase d'hydratation (9 heures), la phase prégerminative (11 à 17 heures) et la phase germinative (6 heures). La lumière rouge sombre et la lumière bleue inhibent la germination au début de la troisième phase. Cette photoinhibition, qui est indépendante de la température, peut être supprimée, à 15° C. par l'acide gibbérellique ; à 20° C les mêmes résultats sont obtenus par l'action combinée de l'acide indolylacétique et de l'acide gibbérellique. L'évolution des substances de croissance endogènes explique ces résultats.

La germination des graines de *Nemophila insignis* présente à peu près les mêmes caractéristiques que celle des graines de *Phacelia tanacetifolia*. Toutefois l'inhibition par la lumière rouge clair, qui se produit au début de la phase prégerminative, ne peut pas être mise en évidence aussi nettement chez les graines de *Nemophila insignis* car il faudrait opérer à des températures supérieures à 20° C qui sont défavorables à la germination.

QUATRIEME PARTIE

LA PHOTOSTIMULATION DE LA GERMINATION

I. - La photostimulation de la germination des semences de *Bidens Radiata*

Une première série d'expériences est réalisée pour préciser l'influence de la température et de la lumière sur la germination des akènes, des graines et des embryons de *Bidens radiata*. Les résultats obtenus ont déjà fait, en partie, l'objet de publications (93) ; ils seront donc brièvement résumés.

A. -- Influence de la température et de la lumière sur la germination des semences.

Les conditions de germination des akènes, des graines et des embryons sont étudiées séparément.

1. — GERMINATION DES AKÈNES.

Les akènes, humidifiés, sont exposés à un éclaircment continu de lumière blanche (400-760 mμ) ou placés à l'obscurité.

L'expérience est réalisée à température constante ou en alternance de température.

a) Germination à température constante.

La température est comprise entre 0 et 40° C.

TABLEAU XLIII

Germination des akènes de *Bidens radiata*, à l'obscurité ou en lumière blanche * (400-760 mμ) : pourcentage de germination en fonction de la température.

Température en ° C **	Pourcentage de germination	
	Lumière	Obscurité
10	0	0
20	0	0
22	0	0
24	0	0
25	97 ± 2	0
26	100	13 ± 2
27	100	27 ± 3
28	100	44 ± 2
29	100	62 ± 4
30	100	75 ± 3
32	100	90 ± 2
34	100	100
35	78 ± 5	80 ± 4
37	35 ± 1	51 ± 6
38	0	15 ± 4
39	0	5 ± 1
40	0	0

* $10^3 \mu\text{w}/\text{cm}^2$; ** $\pm 0.5^\circ \text{C}$.

Le tableau XLIII et la figure 50 illustrent les résultats obtenus :

1) à l'obscurité :

— la germination ne se produit pas à température inférieure ou égale à 25°C ,

— entre 26°C et 33°C le pourcentage de germination croît avec l'élévation de la température.

— à 33°C et 34°C le pourcentage de germination atteint son maximum (100 %),

— la germination est inhibée par des températures supérieures à 35°C ;

2) à la lumière, les résultats sont du même ordre :

— aucune semence ne germe si la température est inférieure à 25° C.

— la totalité des graines germent pour des températures comprises entre 25 et 33° C,

— au-dessus de 35° C, comme à l'obscurité, le pourcentage de germination diminue avec l'accroissement de la température.

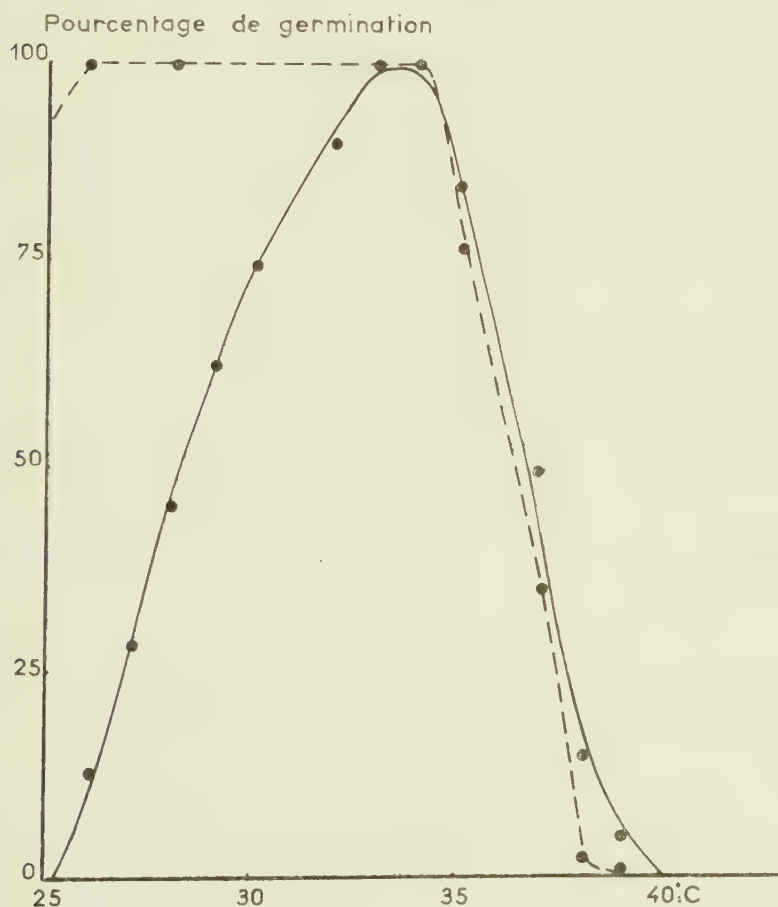


FIGURE 50. — Influence de la température sur le pourcentage de germination des akènes de *Bidens radiata*, à la lumière (— — —) et à l'obscurité (—)

b) *Germination en alternances de température quotidiennes.*

Différentes alternances quotidiennes 24 h 24 h sont utilisées. Dans certains cas, les deux températures délimitant l'alternance sont inférieures à 25° C, valeur qui représente un seuil pour la germination à température constante. Dans d'autres cas, la limite supérieure de l'alternance se trouve située au-delà de 25° C. Enfin, certaines alternances ont leurs limites supérieures à 25° C.

Le tableau XLIV résume les résultats obtenus.

TABLEAU XLIV

Influence des alternances de température sur la germination à l'obscurité et à la lumière, des akènes de *Bidens Radiata*.

alternance de température		5-15	10-15	5-22	10-22	5-27	10-27	25-35
Pourcentage de germination								
obscurité	19 ± 2	0	60 ± 5	40 ± 1	91 ± 3	75 ± 2	100	
lumière	34 ± 2	0	92 ± 4	66 ± 4	100	100	100	

Les alternances de température, dont les limites supérieures et inférieures sont situées en dessous de 25° C, déterminent la germination, à l'obscurité, d'un certain nombre de semences.

Si la limite supérieure de l'alternance est située au-delà de 25° C, le pourcentage de germination est supérieur à celui que l'on obtient à température constante. Ainsi en alternance de température 5-27° C, 91 % des akènes germent alors qu'à une température constante de 27° C, le pourcentage de germination est de 27 %.

Dans tous les cas où les conditions de température ne permettent pas la germination à l'obscurité, on peut remarquer une stimulation de la germination par la lumière.

c) *Conclusions.*

La germination des akènes de *Bidens radiata* est déterminée par des conditions de température bien précises. A l'obscurité la germination de tous les akènes nécessite des températures constantes élevées (33-34° C). Les akènes peuvent également germer à température constante comprise entre 25 et 33° C, ou en alternances de température. Dans ces conditions le pourcentage de germination est moins élevé.

La lumière est également un facteur important. En effet, elle détermine la germination dans des conditions où elle ne se produit pas à l'obscurité. Ainsi à 25° C, 97 % des akènes germent à la lumière et 0 % à l'obscurité. Aux autres températures, le pourcentage de germination est plus élevé à la lumière qu'à l'obscurité.

Toutefois, la température peut être un facteur limitant de l'action de la lumière : si la température est inférieure à 25° C ou supérieure à 37° C, la germination ne se produit pas.

2. — GERMINATION DES GRAINES.

a) *Germination à température constante.*

Les graines sont extraites d'akènes secs. Les résultats exposés dans le tableau XLV montrent que l'influence de la température sur la germination des graines et des akènes est à peu près identique : la limite inférieure de température est la même (25° C), l'évolution du pourcentage de germination en fonction de la température est identique.

TABLEAU XLV

Influence de la température sur la germination; à l'obscurité, des graines et des akènes de *Bidens radiata*.

Température en ° C		24	25	26	28	30	33	35	37	39
Pourcentage de germination	graines	0	10	52	80	100	100	79	45	7
			± 3	± 2	± 2			± 4	± 3	± 1
	akènes	0	0	13	44	75	100	80	51	5

La seule différence réside dans le fait que, pour une température déterminée, le pourcentage de germination des graines est plus élevé que celui des akènes.

Les résultats, exposés dans les tableaux XLV et XLVI, indiquent que la lumière stimule la germination : le pourcentage de germination est très supérieur à celui qui est obtenu à l'obscurité. Mais, comme dans le cas des akènes, il faut noter que la température est un facteur limitant même à la lumière : en dessous de 25° C aucune graine ne germe.

TABLEAU XLVI

Influence de la lumière et de la température sur la germination des graines de *Bidens radiata*.

Température en ° C	24	25	26	28	30	33	35	37	39
Pourcentage de germination	0	95	100	100	100	100	70 ± 2	40 ± 3	0

b) *Germination en alternance de température.*

TABLEAU XLVII

Influence des alternances de température sur la germination des akènes de *Bidens radiata*.

Alternances de température	5-15° C	10-15° C	5-22° C	10-22°C	5-27°C	10-27°C
-------------------------------	---------	----------	---------	---------	--------	---------

Pourcentage de germination

obscurité	48 + 3	9 ± 2	100	77 ± 4	100	100
lumière	75 ± 2	20 ± 2	100	100	100	100

Le Tableau XLVII présente les pourcentages de germination, obtenus à la lumière et à l'obscurité, de graines exposées à diverses alternances de température.

En utilisant des alternances de température telles que celle-ci ne soit jamais égale ou supérieure à 25° C, il est possible d'obtenir la germination de la totalité des graines.

Pour une alternance de température déterminée, le pourcentage de germination est plus élevé à la lumière qu'à l'obscurité.

Ainsi l'influence des alternances de température sur la germination des akènes et des graines est très semblable. Il faut cependant préciser que les graines sont plus sensibles que les akènes à un stimulus provoqué par une élévation ou par une alternance de la température.

3. — GERMINATION DES EMBRYONS

Le Tableau XLVIII montre que la lumière n'est pas un facteur limitant de la germination des embryons. De même la température n'a plus d'influence sur le pourcentage de germination, sauf au-dessus de 35° C.

TABLEAU XLVIII

Influence de la lumière et de la température sur la germination des embryons de *Bidens radiata*

Température en ° C		10	15	25	30	35	37	39
Pourcentage de germination	obscurité	100	100	100	100	70 ± 3	39 ± 2	0
	lumière	100	100	100	100	64 ± 5	27 ± 3	0

4. — CONCLUSIONS

La germination de tous les akènes de *Bidens radiata* peut être obtenue à l'obscurité à température constante voisine de 33°C, et à la lumière à une température égale ou supérieure à 25°C.

Si la température est inférieure à 25°C, les akènes peuvent germer lorsqu'ils sont soumis à des alternances de température quotidiennes.

Il semble donc qu'il existe deux processus de germination. L'un est déterminé par les alternances de température. Il sera appelé « processus thermosensible ». L'autre est contrôlé par la lumière. Il sera désigné sous le vocable de « processus photosensible ».

Les graines présentent des conditions de germination identiques à celles des akènes. Par contre la lumière et la température ne sont pas des facteurs limitants de la germination des *embryons*.

Il est donc clair que la germination des akènes et des graines nécessite des conditions très strictes dues à la présence du péricarpe et des léguments.

Pour pouvoir vérifier l'existence de deux processus de germination il sera nécessaire de se placer dans des conditions telles qu'il y ait une séparation nette entre eux. Ainsi pour l'étude du processus photosensible nous opérerons à 25° C.

L'étude du processus thermosensible se fera essentiellement sur des akènes placés à température constante élevée ou en alternances de température.

Ces expériences seront effectuées sur des akènes. En effet l'isolement des graines est très long et difficile et ne peut pas être réalisé à grande échelle. D'autre part, dans la nature, la graine germe dans le fruit. L'akène constitue donc une unité biologique.

Avant d'étudier les caractéristiques des processus de la germination, il est nécessaire de connaître la durée des différentes phases de la germination.

B. — Les phases de la germination.

En réalisant les mêmes expériences que sur les graines de *Phacelia tanacetifolia* et *Nemophila insignis*, les constatations suivantes peuvent être faites :

— L'hydratation des akènes à la température de 25°C est terminée 6 heures après le début de l'humidification. (Tableau XLIX).

L'évolution de l'intensité respiratoire des akènes présente trois stades. Il se produit tout d'abord une augmentation de l'absorption d'oxygène au cours des six premières heures de la germination. L'intensité respiratoire demeure ensuite constante jusqu'à la 18^{ème} heure puis augmente de nouveau très rapidement (Figure 51).

TABLEAU XLIX

Augmentation du poids de matière fraîche des akènes de *Bidens radiata* en fonction du temps. *

Temps en heures	0	1	2	1	1	2	2	3	4	5	6	7
poids frais en mg	100	133	160		185	220	280	300	315	328	327	

* température = 25°C.

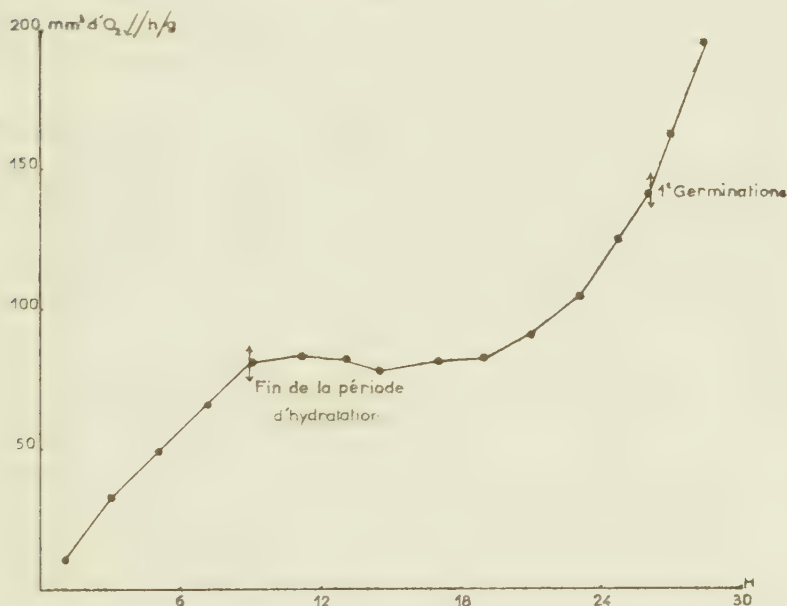


FIGURE 51. — Evolution de l'intensité respiratoire des akènes de *Bidens radiata* au cours de leur germination à 25° C.

le tout début de l'élongation de la radicule ne s'accompagne d'aucune multiplication cellulaire. Les cellules commencent à se diviser activement lorsque la radicule a percé les téguments et le péricarpe.

Il est donc possible de diviser la germination en trois phases :

1) *la phase d'hydratation*. D'une durée de 6 heures, elle est caractérisée par une augmentation du poids des akènes et par une élévation de l'intensité respiratoire.

2) *la phase prégerminative*. Elle se déroule entre la 6^{ème} et la 18^{ème} heure. Pendant cette phase l'intensité respiratoire demeure constante.

3) *la phase germinative*. Elle débute par une nouvelle augmentation de l'intensité respiratoire. Elle cesse lorsque la radicule a percé les téguments.

C. — Caractéristiques du processus photosensible.

La lumière stimule la germination si la température est égale ou supérieure à 25° C. Il est intéressant de savoir si cette condition précise de température est liée à la photoréaction.

I. — RELATIONS ENTRE LA TEMPÉRATURE ET LA PHOTORÉACTION.

Des akènes de *Bidens radiata* sont placés pendant 24 ou 48 heures soit en éclaircment continu soit à l'obscurité, à la température de 20°C, puis sont transférés à l'obscurité à 26°C.

Le tableau L donne les résultats relatifs à cette expérience.

TABEAU L.

Relations entre les conditions de température et la photoréaction.

Conditions des essais	Pourcentage de germination
24 h d'éclaircment à 20°C puis obscurité 26°C	48 ± 1
24 h obscurité à 20°C puis obscurité 26°C	13 ± 3
48 h d'éclaircment à 20° C puis obscurité 26° C	64 ± 2
48 h obscurité à 20°C puis obscurité 26°C	15 ± 4

L'action de la lumière est donc indépendante de la température mais, pour que les produits de la photoréaction puissent stimuler la germination, il est nécessaire de placer les akènes à une température égale ou supérieure à 25°C.

2. — SPECTRE D'ACTION DE LA LUMIÈRE.

La plupart des chercheurs étudiant la photosensibilité ont obtenu des résultats très différents en exposant les semences à des éclairagements de durées limitées ou à des éclairagements continus. Aussi l'influence de ces deux types d'éclairément est-elle analysée séparément.

a) éclairagements de durées limitées.

Des expériences préliminaires montrent que seules les longueurs d'onde supérieures à 630 mμ modifient le pourcentage de germination.

— action de la lumière rouge clair.

Cette étude présente plusieurs étapes :

● influence de la durée d'éclairément.

Le protocole expérimental suivant est adopté : les akènes humidifiés, placés à l'obscurité à 26°C, pendant 24 heures, sont ensuite exposés à des éclairagements de lumière rouge clair de 60 μw/cm² pendant des temps variant entre 10 et 200 minutes. Les akènes sont enfin transférés à l'obscurité à 26°C. Le tableau LI et la figure 52 illustrent les résultats obtenus.

TABLEAU LI

Pourcentage de germination des akènes de *Bidens radiata* en fonction de la durée d'exposition à la lumière rouge clair*.

durée d'exposition à la lumière rouge clair (en minutes)	0	10	20	30	50	70	90	120	150	170	180	200
Pourcentage de germination	6 ±1	8 ±2	9 ±1	12 ±1	14 ±1	20 ±2	27 ±2	38 ±3	56 ±2	68 ±4	76 ±2	75 ±3

* lumière rouge clair : 630-680 mμ ; 60 μw/cm².

Le pourcentage de germination est une fonction linéaire du logarithme du temps d'exposition à la lumière. Pour un éclaircissement de $60 \mu\text{w}/\text{cm}^2$, 150 minutes d'exposition sont nécessaires pour obtenir, à 26°C , la germination de 50% des akènes.

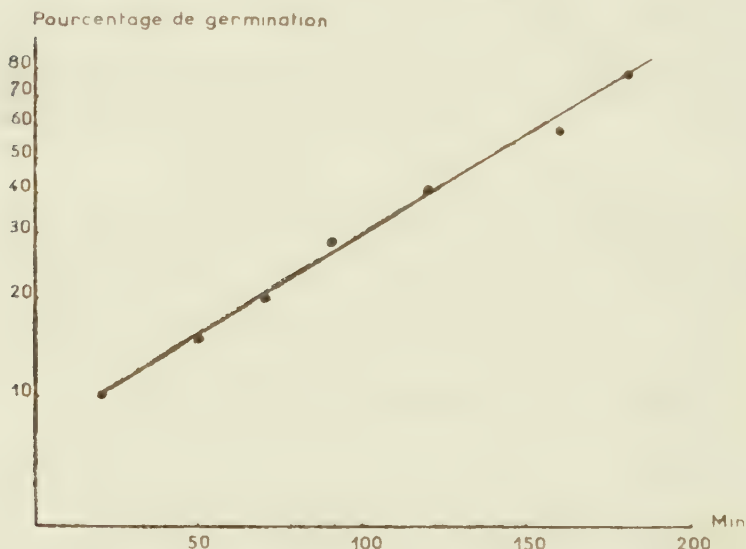


FIGURE 52. — Influence de la durée d'exposition à la lumière rouge clair sur le pourcentage de germination des akènes de *Bidens radiata*.

Dans ces essais la durée de la période obscure, qui précède l'exposition à la lumière rouge clair, est de 24 heures. Il est utile de savoir si une variation de cette période ne modifie pas la sensibilité des akènes à la lumière rouge clair.

● influence de la durée de la période obscure précédant l'exposition à la lumière rouge clair.

Les akènes humidifiés, placés entre 0 et 72 heures à l'obscurité, à 26°C , sont exposés à un éclaircissement de lumière rouge clair pendant 150 minutes et enfin transférés à l'obscurité à 26°C .

Les résultats sont consignés dans le tableau LII.

TABLEAU LII

Pourcentage de germination en fonction de la durée de la période obscure précédant l'exposition à la lumière rouge clair.

durée de la période obscure précédant l'exposition à la lumière rouge clair	0	1	4	6	8	16	24	48	72
Pourcentage de germination	5 ± 1	7 ± 2	10 ± 1	25 ± 2	54 ± 2	57 ± 3	56 ± 2	34 ± 5	14 ± 1

Dans les premières heures qui suivent le début de l'humidification les akènes ne sont que très peu sensibles à la lumière. L'action de la lumière se manifeste à partir de la 4^{ème} heure et atteint un maximum à la 8^{ème} heure de germination. Ensuite, au delà de la 24^{ème} heure, les akènes perdent peu à peu leur sensibilité à la lumière.

— Action de la lumière rouge sombre (700-750 mμ).

Un éclaircissement de lumière rouge sombre de durée limitée (entre 1 et 10 heures) n'a pas d'effet direct sur la germination, mais peut modifier la stimulation provoquée par la lumière rouge clair.

Dans une première série d'expériences, les akènes sont successivement exposés à deux éclaircissements, l'un de lumière rouge clair, l'autre de lumière rouge sombre : les akènes humidifiés, placés 24 heures à l'obscurité, sont exposés pendant 180 minutes à un éclaircissement de lumière rouge clair de 60 μw/cm², puis, pendant un temps variable (entre 0 et 100 minutes) à un éclaircissement de lumière rouge sombre de 100 μw/cm². Le rapport :

$$P.R. = 1 - \frac{\% \text{ de germination après exposition à la lumière rouge sombre}}{\% \text{ de germination après exposition à la lumière rouge clair}}$$

représente bien le pouvoir de réversibilité de la lumière rouge sombre.

Comme le montre la figure 53 et le tableau LIII la diminution du pourcentage de germination est proportionnelle à la durée d'exposition à la lumière rouge sombre.

L'inhibition de la germination est presque totale : 5 % seulement des akènes germent, après une exposition de 100 minutes à la lumière rouge sombre.

TABLEAU LIII

Influence de la durée d'exposition à la lumière rouge sombre* sur le pourcentage de germination d'akènes stimulés par la lumière rouge clair**.

Durée d'éclairement de la lumière rouge sombre (en minutes)	0	10	20	30	40	60	70	80	90	100
% en germination	77 ±1	75 ±3	75 ±2	72 ±1	60 ±2	41 ±3	26 ±2	15 ±1	4 ±1	3 ±1
P.R.	0	0	0	0,04	0,20	0,46	0,65	0,80	0,95	0,96

* lumière rouge sombre : 700-750 mμ ; 100 μw/cm². ** lumière rouge clair 660 mμ ; 180 minutes, 60 μw/cm².

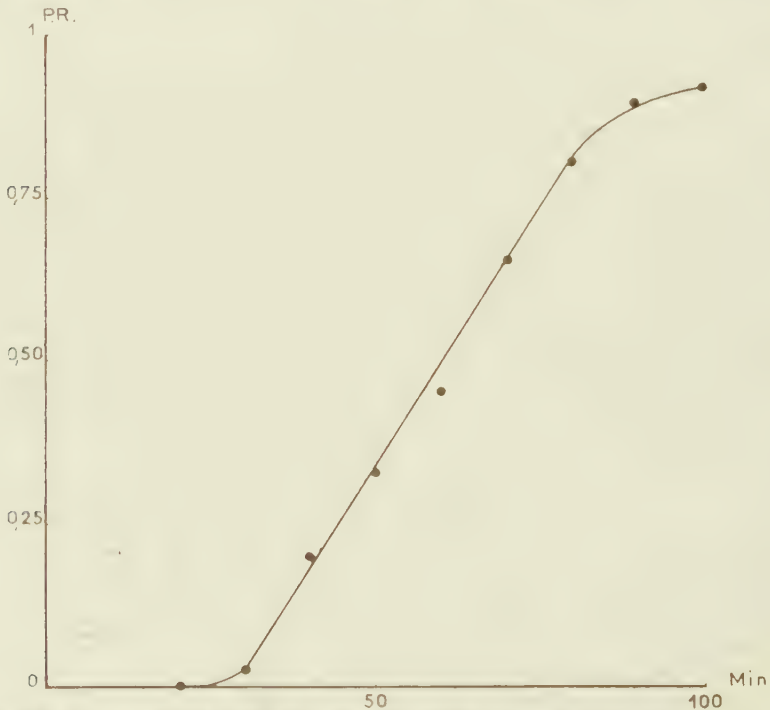


FIGURE 53. — Influence de la lumière rouge sombre sur la germination d'akènes préalablement exposés à la lumière rouge clair. En ordonnée :
% de germination en lumière rouge sombre

P.R. = 1 —
% de germination en lumière rouge clair

Dans une deuxième série d'expériences, une période d'obscurité est intercalée entre les expositions aux lumières rouge clair (180 min.) et rouge sombre (100 min.). Les résultats sont exprimés dans le tableau LIV et traduits par la figure 54. Pendant toute l'expérience la température est égale à 25°C.

TABLEAU LIV

Réversibilité par la lumière rouge sombre* de la stimulation de la germination provoquée par la lumière rouge clair ** : influence de la durée d'une période d'obscurité intercalée entre les deux expositions.

Heures d'obscurité entre les deux éclaircissements	0	2	4	6	8	10	12	15	18	20	25
P. R.	0,92	0,92	0,88	0,80	0,70	0,50	0,36	0,13	0,08	0,06	0,05

* Lumière rouge sombre : 700-750 m μ , 100 min., 100 μ w/cm².

** lumière rouge clair : 630-680 m μ ; 180 min., 60 μ w/cm².

Si la durée de la période obscure dépasse deux heures, l'activité de la lumière rouge sombre diminue proportionnellement au temps, pour devenir presque nulle après 15 heures (Figure 54).

Il apparaît donc que la stimulation de la germination comporte deux phases. Il doit se produire tout d'abord une excitation du photorécepteur par la lumière rouge clair. Dans un deuxième temps le photorécepteur stimule une réaction biochimique. La lumière rouge sombre est susceptible d'agir uniquement dans la première phase.

S'il en est ainsi le fait de supprimer les réactions se produisant pendant la période obscure doit permettre l'action de la lumière rouge sombre.

L'expérience précédente est de nouveau réalisée, mais pendant la période obscure les akènes sont placés à 0°C ou en atmosphère d'azote.

Les courbes de la figure 54 montrent que le fait de placer les akènes à 0°C ralentit très nettement la diminution du pouvoir de réversibilité de la lumière rouge sombre. L'expérience n'est pas totalement concluante : en faisant passer les akènes de 25° C à 0° C, puis de nouveau à 25° C, on provoque des alternances de température.

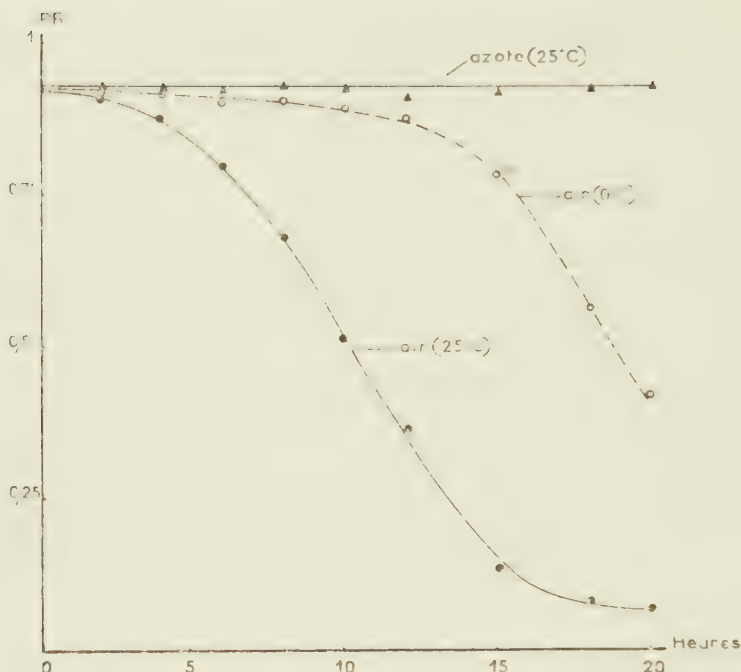


FIGURE 54. — Influence de la durée d'une période obscure intercalée entre les expositions aux lumières rouge clair et rouge sombre. Pendant la période d'obscurité les akènes sont placés dans l'air (25 ou 0° C) ou dans l'azote.

Si les akènes sont placés dans une atmosphère d'azote pendant la période obscure, la lumière rouge sombre conserve intégralement son pouvoir de réversibilité.

— Conclusions.

La lumière rouge clair (660 mμ) détermine la germination des akènes de *Bidens radiata*. Une exposition de 150 minutes à un éclaircissement de 60 μw/cm² permet la germination de 50% des akènes à 25°C.

Si l'exposition à la lumière rouge clair est immédiatement suivie d'une autre à la lumière rouge sombre (700-750 mμ), le pourcentage de germination diminue sensiblement. Le résultat dépend de la durée d'exposition à la lumière rouge sombre.

Une autre exposition à la lumière rouge clair détermine à nouveau la germination.

Ainsi la réversibilité entre les lumières rouge clair et rouge sombre influe sur le photorécepteur en le transformant dans sa forme active ou, au contraire, inactive.

Si les conditions d'action du photorécepteur sont réunies il se produit des réactions qui sont bloquées par un abaissement de température ou par une absence d'oxygène.

b) *éclairéments continus.*

En se plaçant à des températures qui permettent la germination à l'obscurité (32° C), il apparaît que des expositions continues à la lumière rouge sombre inhibent la germination.

Il est donc indispensable de préciser les caractéristiques de cette inhibition.

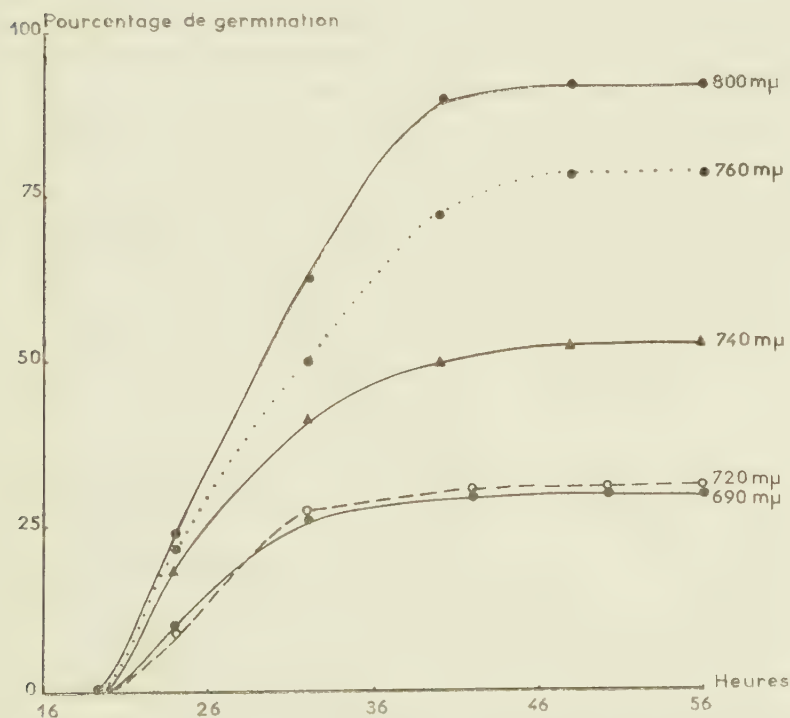


FIGURE 55. — Inhibition de la germination par un éclairage continu de lumière rouge sombre : influence de la longueur d'onde.

— Action de la lumière rouge sombre.

● influence du niveau d'éclairement.

Les akènes, dès le début de l'humidification, sont exposés à un éclairage continu de lumière rouge sombre de longueur d'onde comprise entre 700 et 750 m μ : un éclairage de 1,5 μ w/cm² est suffisant pour obtenir une inhibition maximum de la germination.

La sensibilité de notre thermophile n'a pas permis de déterminer la fonction qui relie l'inhibition de germination et le niveau d'éclairement.

● mise en évidence de la longueur d'onde présentant le maximum d'activité.

Les akènes sont exposés à des éclairages continus provenant de filtres laissant passer la lumière à partir de 690, 720, 740, 760 et 800 m μ . Le niveau d'éclairement est de 20 μ w/cm². Les courbes de la figure 55 expriment les résultats obtenus. Le maximum d'action de la lumière rouge sombre correspond à des longueurs d'onde comprises entre 690 et 720 m μ .

● détermination de la phase de germination contrôlée par la lumière rouge sombre.

Les akènes humidifiés, placés entre 0 et 22 heures à l'obscurité, sont exposés à un éclairage continu de lumière rouge sombre (700-750 m μ) de 20 μ w/cm².

Pendant toutes ces expériences la température demeure constante et égale à 30°C.

Les résultats figurent dans le tableau LV.

TABLEAU LV

Inhibition de la germination par un éclairage continu de lumière rouge sombre*. Influence d'une période obscure précédant l'éclairement.

Heures à l'obscurité	0	2	4	8	12	16	18	19	20	21	22
1 - $\frac{\% \text{ germ. en RS}}{\% \text{ germ. obsc.}}$	0,75	0,73	0,76	0,75	0,77	0,73	0,59	0,49	0,32	0,10	0

* lumière rouge sombre : 700-750 m μ ; 30 μ w/cm².

La lumière rouge sombre contrôle des réactions se produisant entre la 18^{ème} et la 22^{ème} heure de germination.

L'inhibition se situe plus précisément au début de la troisième phase de la germination puisque celle-ci débute à la 18^{ème} heure et cesse à la 30^{ème} heure.

● *influence de la température.*

Le rapport $1 - \frac{\% \text{ de germination en lumière rouge sombre}}{\% \text{ de germination à l'obscurité}}$ est déterminé pour des températures comprises entre 28 et 38°C.

La figure 56 indique les variations de ce rapport. Deux constatations peuvent être faites :

1) une élévation de la température diminue l'activité inhibitrice de la lumière rouge sombre : 0,66 à 30°C et 0,31 à 35°C (Figure 56).

2) à une température supérieure à 35°C la lumière rouge sombre inhibe à nouveau fortement la germination.

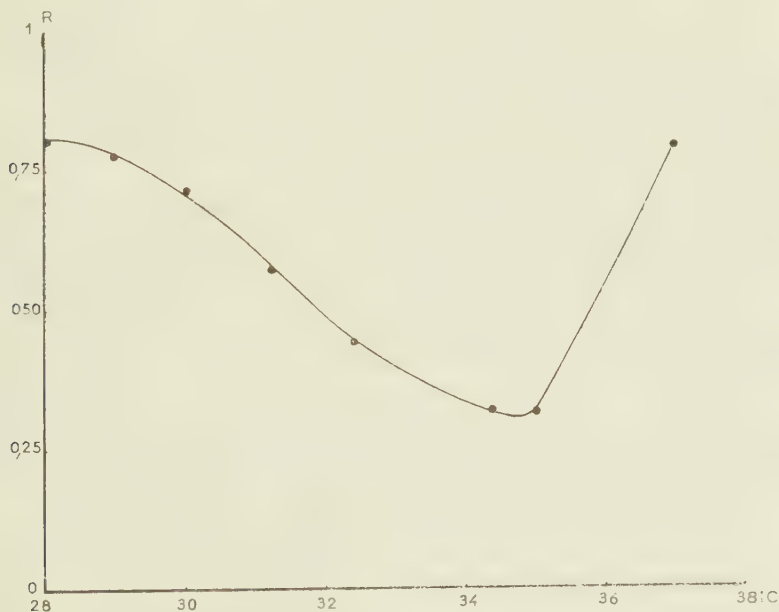


FIGURE 56. — Influence de la température sur l'action inhibitrice de la lumière rouge sombre.

$$\text{P.R.} = 1 - \frac{\% \text{ de germination en lumière rouge sombre}}{\% \text{ de germination à l'obscurité}}$$

Ainsi la photoinhibition provoquée par la lumière rouge sombre est minimale à des températures qui sont optimales pour la germination à l'obscurité, ce qui donne à penser que la température pourrait ne pas intervenir directement dans la réaction de photoinhibition mais permettrait la germination par un autre mécanisme.

● *influence de la lumière rouge clair après un éclaircissement prolongé de lumière rouge sombre.*

Les akènes sont exposés pendant 3 jours à un éclaircissement continu de lumière rouge sombre puis à un éclaircissement de lumière rouge clair de durée variant entre 1 et 24 heures. Les akènes sont ensuite placés à l'obscurité. Dans ces conditions, aucune germination ne se produit.

Une période de 48 heures d'obscurité après une exposition de 3 jours à la lumière rouge sombre est nécessaire pour obtenir la stimulation de la germination par la lumière rouge clair.

● *conclusions.*

La lumière rouge sombre de longueurs d'onde comprises entre 690 et 740 m μ inhibe la germination si l'éclaircissement est continu. Cette inhibition est maximale pour des longueurs d'onde voisines de 690-720 m μ et pour des niveaux d'éclaircissement faibles (1,5 μ w/cm²).

La lumière rouge sombre contrôle une ou plusieurs réactions se déroulant au cours de la 3^{ème} phase de la germination (entre la 18^{ème} et la 22^{ème} heure). Une augmentation de la température (entre 25 et 35°C) diminue l'activité inhibitrice de cette lumière. Il ne semble pas que la température intervienne directement dans la photoréaction.

La nature de l'action de la lumière rouge sombre diffère en fonction de la durée de l'éclaircissement : une exposition de courte durée n'inhibe pas la germination mais annihile simplement l'effet de la lumière rouge clair ; par contre, la germination n'a pas lieu si les akènes sont exposés à un éclaircissement continu.

Cette photoinhibition présente de grandes analogies avec celle qui caractérise les graines de *Nemophila insignis* et *Phacelia tanacetifolia*.

Chez ces graines, la lumière bleue avait une action identique à celle de la lumière rouge sombre. Nous avons donc pensé qu'il serait intéressant de connaître l'influence de la lumière bleue sur la germination des akènes de *Bidens radiata*.

— action de la lumière bleue (440-480 mμ).

Comme le montre le tableau LVI un éclaircissement continu de lumière bleue de 30 μw/cm² inhibe nettement la germination mais uniquement à des températures inférieures à 33°C.

TABEAU LVI

Influence d'un éclaircissement continu de lumière bleue* sur la germination des akènes de *Bidens radiata*, à différentes températures.

Température en °C	25	28	30	33	35	37
pourcentage de germination à l'obscurité	0	44 ± 2	75 ± 3	100	80 ± 4	51 ± 6
pourcentage de germination à la lumière bleue	0	10 ± 2	39 ± 2	93 ± 4	72 ± 3	40 ± 3

* lumière bleue : 400-480 ; 30 μw/cm².

Il serait nécessaire d'opérer avec des éclaircissements plus intenses pour étudier l'influence de la lumière bleue. Malheureusement le matériel (filtres, source de lumière) que nous possédions n'a pas permis de telles expériences.

Malgré la faible inhibition que produit la lumière bleue il est indispensable de savoir à quel moment de la germination elle se produit.

Pour cela, les akènes sont humidifiés et placés à l'obscurité à 28°C. Au bout d'un temps variant entre 2 et 24 heures les akènes sont exposés à un éclaircissement continu de lumière bleue (30 μw/cm²). Le tableau LVII indique les résultats obtenus.

Les écarts entre les pourcentages de germination d'akènes à l'obscurité et en lumière bleue étant faibles, cette expérience n'est pas très précise. Elle permet cependant de montrer que la lumière bleue agit à partir de la 18^{me} heure de germination, c'est-à-dire au cours de la phase germinative.

TABLEAU LVII

Influence de la lumière bleue sur la germination des akènes de *Bidens radiata* : importance de la durée de la période obscure qui précède l'exposition des akènes à cette lumière.

durée de la période obscure (en heures)	2	4	8	12	16	18	20	22	24
pourcentage de germination à la lumière bleue	11 ± 2	9 ± 1	10 ± 2	10 ± 2	11 ± 3	19 ± 2	39 ± 2	46 ± 3	45 ± 3

3. — Conclusions.

Les résultats des expériences décrites dans ce paragraphe indiquent que deux systèmes contrôlent la germination :

1) *un système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.* La germination est stimulée par la lumière rouge clair (660 m μ). La lumière rouge sombre (700-750 m μ) n'a pas d'influence directe sur elle mais annihile la stimulation provoquée par la lumière rouge clair. Une autre exposition à la lumière rouge clair permet, à nouveau, la germination.

Après excitation par la lumière rouge clair, le photorécepteur catalyse une ou plusieurs réactions qui ne sont pas inhibées par la lumière rouge sombre. L'antagonisme entre ces deux réactions se situe donc au niveau du photorécepteur lui-même et non pas au cours des réactions qu'il détermine.

La stimulation par la lumière rouge clair peut se produire dès que l'hydratation des semences est terminée c'est-à-dire dès le début de la phase prégerminative.

2) *un système rouge sombre — bleu.* Une exposition continue à la lumière rouge sombre (690-720 m μ) inhibe la germination, au cours de la phase germinative. La lumière bleue (400-480 m μ) agit dans le même sens mais beaucoup plus faiblement.

Toutes les expériences décrites jusqu'ici permettent de mettre en évidence deux processus de germination :

- 1) un processus thermosensible
- 2) un processus photosensible

Ce dernier est commandé par deux systèmes :

- un système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre
- un système rouge sombre — bleu

Il est nécessaire d'apporter des confirmations à ces résultats. Une étude de l'action des substances stimulant la germination peut donner quelques indications supplémentaires.

D. — Influence des substances stimulant la germination.

La germination peut être stimulée par quatre types de substances : les nitrates, la thiourée, les kinines et les gibbérellines.

1. — INFLUENCE DES NITRATES ET DES NITRITES.

Dans une première série d'expériences, les akènes sont placés à l'obscurité, à température constante ou en alternances de température.

a) Germination à l'obscurité.

— A température constante.

TABLEAU LVIII

Influence des nitrates et nitrites sur le pourcentage de germination des akènes de *Bidens radiata*, à l'obscurité, à température constante

Solution utilisée		eau	NO ₃ K	NO ₃ NH ₄	NO ₃ Na	(NO ₃) ₂ Ca	NO ₂ Na
Concentration optimale $\times 10^{-3}$			5	10	10	1	2,5
Pourcentage de germination	20° C	0	0	0	0	0	0
	25° C	0	0	0	0	0	0
	26° C	12	23	70	20	14	43
	28° C	44	77	100	65	53	90
	29° C	60	84	100	78	70	98
	34° C	100	100	100	100	80	100

Les akènes sont humidifiés par des solutions de nitrate de potassium, de sodium, de calcium, d'ammonium ou de nitrite de sodium.

Le tableau LVIII indique le pourcentage de germination obtenu à différentes températures et à la concentration correspondant à l'activité du sel considéré.

Les nitrates et les nitrites stimulent la germination mais uniquement à des températures supérieures ou égales à 26°C. Ils agissent dans le même sens qu'une élévation de la température.

— *En alternance de température.*

Les essais sont réalisés avec le nitrate de potassium. Les alternances de température 5° — 22°C et 15° — 22°C sont utilisées.

En alternance de température 5° — 22°C, 40% des akènes germent s'ils sont humidifiés par l'eau, et 82%, s'ils sont humidifiés par une solution de nitrate de potassium à 0,05%. Avec l'alternance 15° — 22°C on obtient respectivement 20% et 53% de germination.

Si les conditions de température permettent la germination à l'obscurité d'un certain nombre d'akènes (température constante supérieure à 25°C ou alternances de température), les nitrates et nitrites augmentent le pourcentage de germination.

Les sels les plus actifs sont le nitrate d'ammonium et le nitrate de sodium. Ils agissent à concentration élevée (de 1 à 10×10^{-3}).

b) *germination à la lumière.*

Il est indispensable de savoir si les nitrates et les nitrites modifient les conditions d'action des deux systèmes photosensibles déjà définis.

— *Influence sur le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.*

Le premier problème qui se pose est de préciser s'il existe des relations entre l'action des nitrates et celle de la lumière rouge clair.

Les akènes, humidifiés par de l'eau distillée ou par une solution de nitrate de potassium à 5×10^{-3} , sont placés à l'obscurité, à 26°C, pendant 24 heures, puis sont exposés à la lumière rouge clair ($60 \mu\text{w}/\text{cm}^2$) pendant des temps variables (entre 10 et 180 minutes).

Le tableau LIX montre que la présence des nitrates ne modifie pas le pourcentage de germination. Les nitrates et la lumière n'ont pas d'effets synergiques ni même additifs ce qui indique que leurs actions sont totalement différentes.

TABLEAU LIX

Influence du nitrate de potassium* sur la sensibilité des akènes de *Bidens radiata* à la lumière rouge clair**.

Durée d'exposition à la lumière rouge clair		0	10	20	30	50	70	90	120	150	170	180
Pourcentage de germination	eau	7	8	8	9	6	21	26	41	54	70	77
	nitrate	6	5	8	10	9	22	29	39	56	69	76

* solution 5×10^{-3} ; ** 630-680 m μ ; 60 μ w/cm².

Pour compléter cette étude, il faut analyser l'influence des nitrates sur la réaction réversible rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.

Dans ce but, les akènes, humidifiés par l'eau ou par une solution de nitrate de potassium à 5×10^{-3} , sont placés pendant 24 heures à l'obscurité à 26°C, puis exposés pendant 180 minutes à la lumière rouge clair (60 μ w/cm²) et pendant 100 minutes à la lumière rouge sombre (100 μ w/cm²). 5% des akènes humidifiés par l'eau et 25% des akènes humidifiés par la solution de nitrate de potassium, germent. Le même pourcentage de germination est obtenu à l'obscurité (expérience témoin).

Tous ces faits tendent à prouver que les nitrates n'interviennent pas dans les réactions contrôlées par le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.

— Influence sur le système rouge sombre — bleu.

Les akènes sont exposés, dès le début de l'humidification par l'eau distillée ou par une solution de nitrate de potassium à 5×10^{-3} , à un éclaircissement de lumière rouge sombre de 20 μ w/cm².

L'activité inhibitrice de la lumière rouge sombre est déterminée à 28°C et 30°C. Les résultats sont exposés dans le tableau LX.

TABLEAU LX

Influence d'un éclairciment continu de lumière rouge sombre* sur la germination à 28 et 30°C, d'akènes humidifiés par l'eau ou par une solution de nitrate de potassium à 5×10^{-3} .

Condition	eau	NO ₃ K	eau	NO ₃ K
	28°C	28°C	30°C	30°C
Pit	0,80	0,64	0,70	0,46

* 700-750 mμ ; 20 μw/cm².

La présence du nitrate de potassium diminue la valeur de la photoinhibition.

Des résultats du même ordre sont obtenus si les akènes sont exposés à un éclairciment continu de lumière bleue. Le tableau LXI en fournit la démonstration.

TABLEAU LXI

Influence d'un éclairciment continu de lumière bleue* sur la germination, à 28°C, d'akènes humidifiés par l'eau ou par une solution de nitrate de potassium à 5×10^{-3} .

Conditions	Pourcentage de germination
eau + obscurité	44
eau + lumière	15
nitrate + obscurité	71
nitrate + lumière	59

* 400-480 mμ ; 35 μw/cm².

Dans ce cas encore, la photoinhibition est modifiée par les nitrates sans qu'il soit possible d'affirmer qu'il y ait quelque interaction avec le système rouge sombre — bleu.

Il est donc nécessaire de savoir si les nitrates peuvent stimuler la germination après action de la lumière rouge sombre. S'il en est ainsi, il est à peu près certain que les nitrates et la lumière ont des actions tout à fait indépendantes.

Les akènes sont humidifiés par l'eau et exposés, à 30°C, à un éclairage continu de lumière rouge sombre. Au bout d'un temps variant entre 1 et 22 heures une solution de nitrate de potassium à 5×10^{-3} , est ajoutée au milieu de germination. Le tableau LXII indique les résultats obtenus.

TABLEAU LXII

Influence du nitrate de potassium sur la germination en fonction du moment où il est ajouté au milieu de germination.
Eclairage continu de lumière rouge sombre.

Nombre d'heures avant addition de NO_3K	0	1	2	3	4	6	8	10	12	16	18	20	22
Pit	0,45	0,45	0,42	0,46	0,46	0,45	0,44	0,45	0,43	0,47	0,42	0,46	0,44

Le pourcentage de germination est identique dans tous les cas. Par contre, la lumière rouge sombre agit pendant une période déterminée de la germination (entre la 18^{ème} et la 22^{ème} heure).

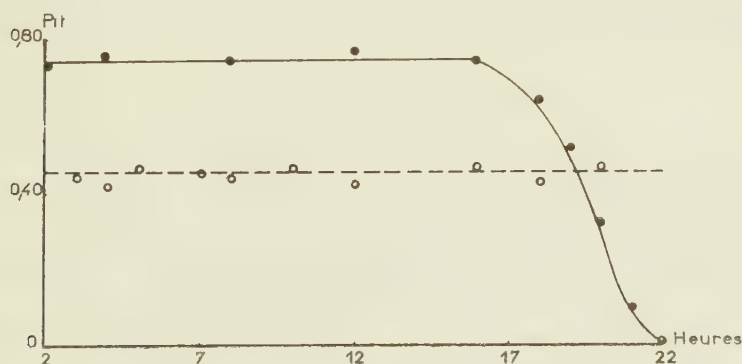


FIGURE 57. — Relations entre l'action des nitrates et celle de la lumière rouge sombre.

— — — — — influence du nitrate de potassium en fonction du moment où il est ajouté au milieu de germination. Les akènes sont exposés à un éclairage continu de lumière rouge sombre.

————— influence de la lumière rouge sombre en fonction du moment où les akènes sont exposés à cette lumière.

La comparaison de ces deux expériences (figure 57) montre que l'action des nitrates peut également se produire après la période de germination contrôlée par la lumière rouge sombre.

Cette expérience confirme l'hypothèse d'une indépendance entre l'action des nitrates et l'inhibition par la lumière rouge sombre. Les nitrates semblent « contourner » l'inhibition due à la lumière rouge sombre en renforçant l'action des températures élevées.

c) *Conclusions.*

Les nitrates stimulent la germination à l'obscurité à température constante supérieure à 25° C ou en alternances de température. Dans tous ces cas, les nitrates augmentent le pourcentage et la vitesse de germination. Ils interviennent donc dans le processus thermosensible. D'autre part, les nitrates ne modifient pas la sensibilité des akènes à la lumière rouge clair. Leur activité stimulatrice est toujours identique quelles que soient les conditions d'éclairement. Les nitrates n'interviennent donc pas dans le processus photosensible.

Les nitrites, à des concentrations identiques à celles des nitrates (0,1 % à 0,01 %), donnent des résultats du même ordre.

2. — INFLUENCE DE LA THIOURÉE.

Le processus expérimental adopté est le même que pour les nitrates.

a) *germination à l'obscurité.*

Les akènes sont humidifiés par l'eau distillée ou par une solution de thiourée à 0,1%.

Le tableau LXIII indique les résultats obtenus pour des températures constantes comprises entre 28°C et 39°C.

À une température déterminée, comprise entre 25 et 33°C, la thiourée stimule la germination (Figure 58).

À température supérieure à 35°C, la thiourée n'a plus d'effet. Elle n'a donc aucune action sur la thermodormance.

La thiourée agit à des concentrations assez élevées (0,1%). Des solutions à 0,5% sont encore plus actives sur la germination mais inhibent la croissance des racines, qui se nécrosent : le pourcentage de germination obtenu est plus élevé (90% à 29°C) mais les embryons sont alors incapables de donner naissance à une plantule normale.

TABLEAU LXIII

Influence d'une solution de thiourée à 0,1% sur le pourcentage de germination à l'obscurité.

Température en °C		22	25	28	29	33	35	37,5	39
Pourcentage de Germination	thiourée	0	13 ± 3	74 ± 1	95	100 1	85 ± 2	50 ± 4	0 ± 1
	eau	0	0	44 ± 4	66 ± 2	100	80 ± 2	51 ± 4	5 ± 1

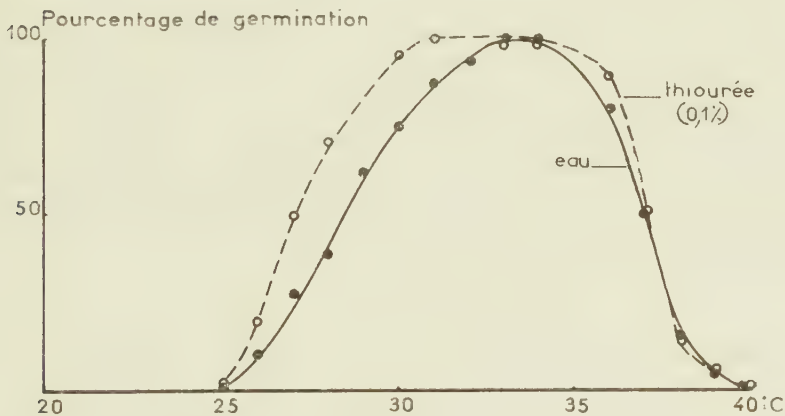


FIGURE 58. — Influence de la température sur la germination à l'obscurité, d'akènes humidifiés par l'eau (—) ou par une solution de thiourée à 0,1 % (---).

Les solutions à concentrations inférieures à 0,05 % n'ont pas d'effet.

Le tableau LXIV indique les résultats obtenus lorsque les akènes sont soumis à des alternances de température.

La thiourée stimule la germination des akènes soumis à des alternances de température.

TABLEAU LXIV

Influence de la thiourée, en solution à 0,1%, sur la germination des akènes soumis à des alternances de température.

alternance de température		5 — 22°C	10 — 25°C
Pourcentage de germination	eau	40 ± 3	46 ± 2
	thiourée	72 ± 4	95 ± 2

La thiourée exerce une activité stimulatrice dans tous les cas où les conditions de température déterminent la germination de quelques akènes. Cette substance intervient donc dans le processus thermosensible.

b) germination à la lumière.

— Influence sur le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre

Les akènes, humidifiés par l'eau distillée ou par une solution de thiourée à 0,1 %, sont placés 24 heures à l'obscurité puis exposés pendant 150 minutes à un éclaircissement de lumière rouge clair de 60 gw/cm². Le tableau LXV donne les résultats obtenus dans ces conditions et permet de les comparer avec ceux obtenus à l'obscurité.

TABLEAU LXV

Influence de la thiourée sur la sensibilité des akènes à la lumière rouge clair. Température de l'expérience : 26° C.

Conditions	Pourcentage de germination
eau + obscurité totale	5 ± 1
thiourée + obscurité totale	20 ± 3
eau + 24 h obscurité + 150 min. lumière	56 ± 3
thiourée + 24 h obscurité + 150 min. lumière	51 ± 4

La thiourée n'augmente pas le pourcentage de germination d'akènes exposés à un éclaircment de 150 minutes de lumière rouge clair. Elle ne diminue pas la durée d'éclaircment de lumière rouge clair nécessaire à l'obtention de 50% de germination. Ainsi cette substance ne modifie pas la sensibilité des akènes à la lumière rouge clair.

La thiourée pourrait intervenir dans la réaction de réversibilité entre les lumières rouge clair et rouge sombre. Le tableau LXVI récapitule les expériences réalisées et les résultats obtenus.

TABLEAU LXVI

Influence de la thiourée sur la réaction réversible rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.

Conditions	Pourcentage de germination
eau + obscurité totale	5 $\pm$ 1
thiourée + obscurité totale	22 $\pm$ 3
eau + 24 h obscurité + 150 min. rouge clair*	56 $\pm$ 3
thiourée + 24 h obscurité + 150 min. rouge clair	51 $\pm$ 4
eau + 24 h obscurité + 150 min. rouge clair + 100 min. rouge sombre**	3 $\pm$ 1
thiourée + 24 h obscurité + 150 min. rouge clair + 100 min. rouge sombre	7 $\pm$ 2

* lumière rouge clair 630-680 m μ ; 60 μ w/cm².

** lumière rouge sombre 700-750 m μ ; 100 μ w/cm².

Le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre n'est donc absolument pas influencé par la thiourée.

— Influence sur le système rouge sombre — bleu.

Les akènes, humidifiés par l'eau ou par une solution de thiourée à 0,1 %, sont exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre de 20 μ w/cm². Les résultats sont consignés dans le tableau LXVII.

TABLEAU LXVII

Influence de la thiourée sur le pourcentage de germination d'akènes exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre*.

Température en °C.**		25	26,5	28	30	32	33,5	37,5	39
Pourcentage de germination	eau	1	8	18	28	39	39	11	0
		± 1		± 3	± 2	± 2	± 2	± 3	
	thiourée	4	13	43	81	90	89	13	0
		± 2		± 1	± 2	± 2	± 3	± 2	

* 700-750 m μ ; 20 μ w/cm². ** $\pm 0,5^\circ$ C.

La thiourée stimule la germination d'akènes exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre : la courbe de stimulation de la germination par la thiourée est la même que les akènes soient exposés à la lumière ou placés à l'obscurité (Figure 59).

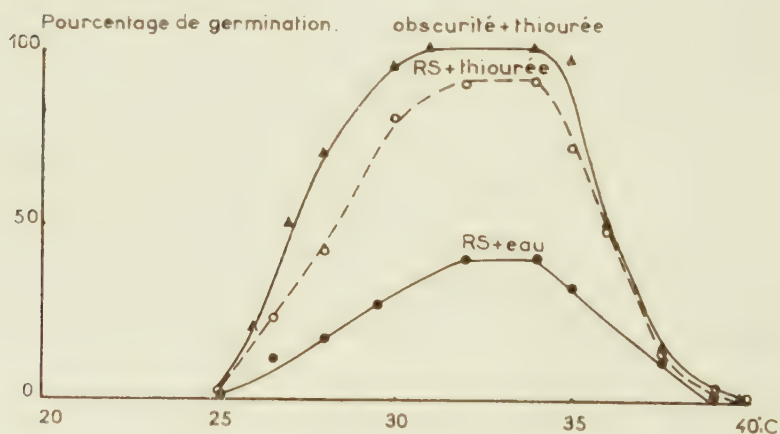


FIGURE 59. — Influence de la température sur la germination d'akènes.

- humidifiés par la thiourée et placés à l'obscurité (Δ — Δ — Δ)
- humidifiés par la thiourée et exposés à la lumière rouge sombre (—)
- humidifiés par l'eau et exposés à la lumière rouge sombre (—●—●—●—)

Cette stimulation est également obtenue si les akènes sont exposés à un éclaircment continu de lumière bleue (400-480 m μ ; 35 μ w/cm²). Ces résultats sont exposés dans le tableau LXVIII.

TABLEAU LXVIII

Influence de la thiourée sur la germination des akènes exposés à un éclaircment continu de lumière bleue*. Température de l'expérience 28°C.

Conditions	Pourcentage de germination
eau + obscurité	44 $\pm$ 2
eau + lumière bleue	15 $\pm$ 3
thiourée + obscurité	74 $\pm$ 2
thiourée + lumière bleue	70 $\pm$ 2

* lumière bleue : 400-480 m μ ; 34 μ w/cm².

La thiourée permet la germination d'akènes exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre ou bleue mais uniquement à certaines températures pour lesquelles la photoinhibition est déjà normalement diminuée.

Comme dans le cas des nitrates une expérience complémentaire est nécessaire pour savoir si la thiourée agit directement sur la photoinhibition ou déclenche un mécanisme qui permet de « contourner » l'inhibition. Pour cela, les akènes, humidifiés par l'eau, sont exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre. Au bout d'un temps variant entre 1 et 22 heures après le début de l'humidification, une solution de thiourée à 0,1% est ajoutée au milieu de germination. La figure 60 montre que la thiourée a toujours la même activité. Elle peut donc stimuler la germination même après inhibition par la lumière rouge sombre.

c) conclusions.

La thiourée intervient dans le processus thermosensible. Pour une température déterminée, la thiourée augmente le pourcentage de germination à l'obscurité. Son action est totalement indépendante des deux mécanismes qui commandent le processus photosensible,

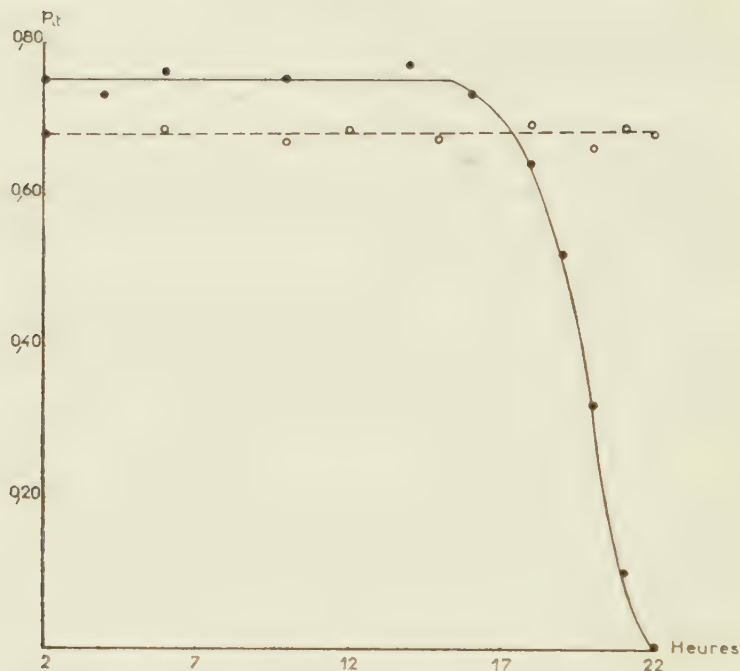


FIGURE 60. — Action de la thiourée (— — —) sur la germination d'akènes exposés à la lumière rouge sombre : influence du moment où la thiourée est ajoutée au milieu de germination. (————) influence de la lumière rouge sombre en fonction du moment où les akènes sont exposés à cette lumière.

3. — INFLUENCE DE LA KINETINE.

Une première série d'expériences permet d'analyser l'influence de solutions de kinétine de concentrations comprises entre 10^{-6} M et 5×10^{-4} M, à l'obscurité, sur la germination des akènes de *Bidens radiata*.

a) germination à l'obscurité.

Le tableau LXIX indique les résultats obtenus pour des températures constantes comprises entre 22 et 39°C.

Si les akènes sont humidifiés par une solution de kinétine à 5×10^{-6} M, la germination ne se produit pas à température inférieure à 25°C. D'autre part, les pourcentages de germination d'akènes, humidifiés par l'eau ou par la kinétine, sont identiques pour des températures comprises entre 26 et 33°C.

TABLEAU LXIX

Influence de la kinétine* sur le pourcentage de germination, à l'obscurité, des akènes de *Bidens radiata*.

Température		15	22	26	28	29	33	36	37	39
pourcentage de germination	kinétine	0	0	0	59 ± 3	67 ± 2	100	72 ± 4	50 ± 5	6 ± 1
	eau	0	0	1	62 ± 2	75 ± 4	100	88 ± 2	75 ± 3	20 ± 4

* 5×10^{-5} M.

Toutefois la kinétine exerce deux actions nettes :

1) elle diminue l'inhibition provoquée par les températures élevées (supérieures à 35°C),

2) elle augmente la vitesse de germination. En fait ce n'est pas la vitesse de germination d'une graine qui est déterminée mais la vitesse d'accroissement du taux de germination. La figure 61 montre que cette vitesse est représentée par la tangente de l'angle α . Les valeurs sont de 1,33 pour les akènes humidifiés par la kinétine et 0,88 pour les akènes humidifiés par l'eau.

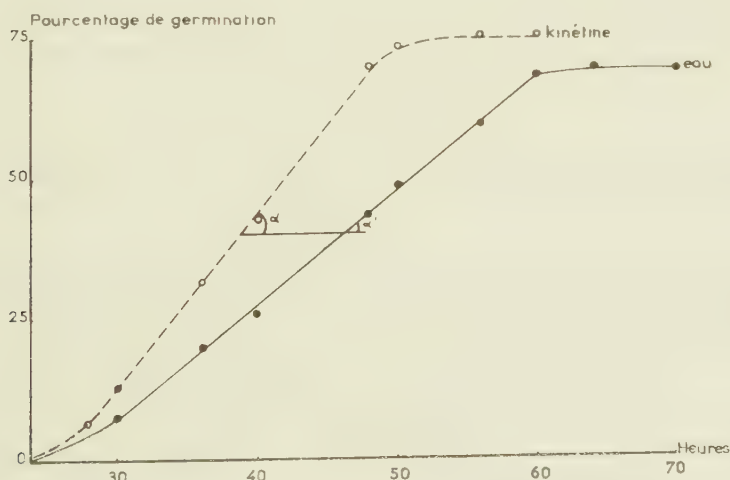


FIGURE 61. — Influence de la kinétine sur la vitesse d'accroissement du taux de germination.

La kinétine n'a pas non plus d'influence sur la germination d'akènes soumis à des alternances de température.

Ces résultats démontrent que la kinétine n'a pas les mêmes actions que les nitrates ou la thiourée : elle ne stimule pas la germination à température constante, comprise entre 25 et 33°C, ou en alternances de température.

b) germination à la lumière.

— Influence sur le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre

Des akènes, humidifiés par l'eau ou par une solution de kinétine à 5×10^{-5} M, sont placés à l'obscurité à 26° C pendant 24 heures puis sont exposés pendant 90, 120 ou 150 minutes à un éclairage de lumière rouge clair de 60 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

Les résultats figurent dans le tableau LXX.

TABLEAU LXX

Influence de la kinétine sur la sensibilité des akènes à la lumière rouge clair*.

Minutes d'exposition à la lumière R.C.	Pourcentage de germination	
	eau	kinétine
90	28 $\pm$ 2	30 $\pm$ 3
120	38 $\pm$ 3	38 $\pm$ 5
150	56 $\pm$ 3	63 $\pm$ 4

* 630-680 m μ : 60 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

Pour un éclairage de durée déterminée, le pourcentage de germination est le même, que les akènes soient humidifiés par l'eau ou par une solution de kinétine.

Une autre série d'expériences permet de constater que la kinétine ne modifie pas les conditions de la réversibilité entre les lumières rouge clair et rouge sombre.

Le Tableau LXXI indique les résultats obtenus à la température de 26°C.

TABLEAU LXXI

Influence de la kinétine sur la réaction réversible rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.

Conditions	Pourcentage de germination
eau + obscurité totale	5 $\pm$ 1
kinétine + obscurité totale	4 $\pm$ 1
eau + 24 h obscurité + 150 min. rouge clair	56 $\pm$ 3
kinétine + 24 h obscurité + 150 min. rouge clair	63 $\pm$ 4
eau + 24 h obscurité + 150 min. rouge clair + 150 min. rouge sombre	3 $\pm$ 1
kinétine + 24 h obscurité + 150 min. rouge clair + 150 min. rouge sombre	2 $\pm$ 1

— Influence sur le système rouge sombre — bleu.

Les akènes, humidifiés par l'eau ou par une solution de kinétine 5×10^{-5} M, sont exposés à un éclaircissement continu de lumière rouge sombre de $20 \mu\text{w}/\text{cm}^2$. Le tableau LXXII indique le pourcentage de germination obtenu en fonction de la température.

TABLEAU LXXII

Influence de la kinétine en solution à 5×10^{-5} M sur le pourcentage de germination d'akènes exposés à un éclaircissement continu de lumière rouge sombre*.

Température en °C		28	30	32,5	34	36,5	37,5	40
% de germi-	eau	18	29	39	39	31	17	0
nation	kinétine	30	42	70	83	85	75	0

* 700-750, $20 \mu\text{w}/\text{cm}^2$.

Ces résultats montrent que la kinétine stimule la germination des akènes exposés à la lumière rouge sombre, et que, d'autre part, elle diminue partiellement l'action inhibitrice des températures élevées.

Le graphique de la Figure 62 montre que l'activité stimulatrice de la kinétine exprimée par le rapport $\frac{\% \text{ de germ. en présence de kinétine}}{\% \text{ de germ. en présence d'eau}}$, déterminé pour des akènes exposés à un éclairage continu de lumière rouge sombre, augmente avec la température.

Mais ces expériences ne démontrent pas que la kinétine intervienne directement dans le système rouge sombre — bleu.

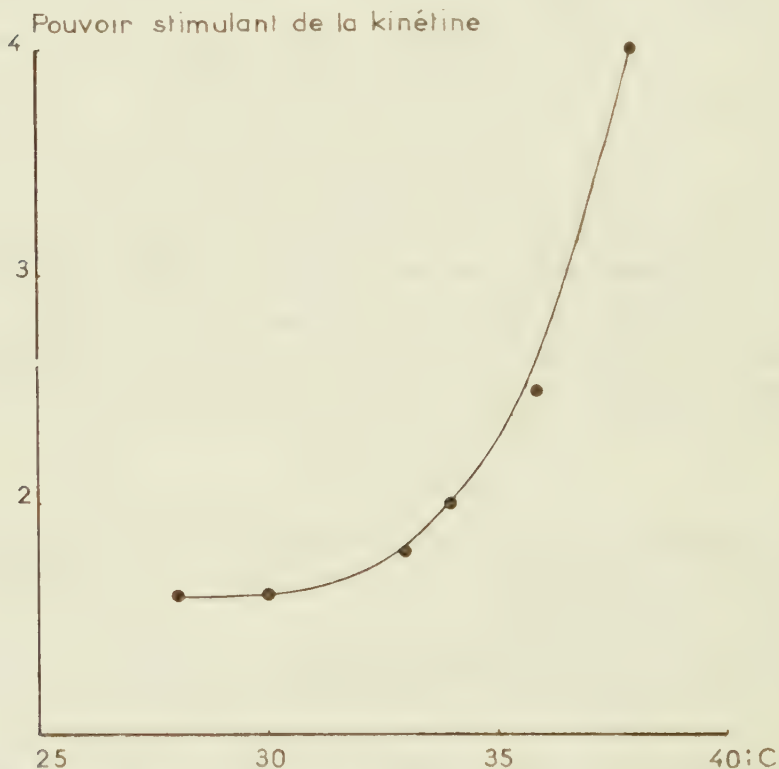


FIGURE 62. — Pouvoir stimulant de la kinétine, en fonction de la température.

$$\text{Pouvoir stimulant} = \frac{\% \text{ de germ. d'akènes humidifiés par la kinétine}}{\% \text{ de germ. d'akènes humidifiés par l'eau}}$$

Afin de préciser ce point, des akènes, humidifiés par l'eau, sont exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre. Au bout d'un temps compris entre 1 et 20 heures les akènes sont transférés sur un milieu contenant de la kinétine à une concentration de 5×10^{-5} M. Le Tableau LXXIII donne les résultats obtenus à 30°C.

TABLEAU LXXIII

Influence de la kinétine sur la photoinhibition due à la lumière rouge sombre : importance du moment où intervient la kinétine.

Heures à la lumière avant action de la kinétine	0	2	4	8	10	12	16	18	19	20	21	22	23
Pourcentage de germination	70	72	77	74	76	75	74	69	54	38	18	4	0

Si la kinétine est ajoutée au milieu de germination entre la 2^{ème} et la 16^{ème} heure qui suit le début de l'humidification, son activité de stimulation de la germination est élevée. Par contre, après la 16^{ème} heure, l'activité diminue pour s'annuler rapidement. La Figure 63 permet de comparer la courbe des variations de l'activité de stimulation de la kinétine, en fonction du moment où cette substance est ajoutée au milieu de germination, et la courbe d'activité inhibitrice de la lumière rouge sombre, en fonction du nombre d'heures à l'obscurité précédant l'exposition à cette lumière. Ces courbes sont pratiquement parallèles. L'activité de ces deux agents diminue à la 16^{ème} heure et devient nulle entre la 22^{ème} et la 23^{ème} heure. Le pouvoir stimulant de la kinétine est réduit de moitié à la 19^{ème} heure ; c'est à peu près à la 20^{ème} heure que l'activité inhibitrice de la lumière rouge sombre perd cinquante pour cent de son activité maximale.

Ces résultats prouvent qu'il y a une relation certaine entre l'action de la kinétine et la lumière rouge sombre. La kinétine bloque l'inhibition due à la lumière rouge sombre à condition qu'elle puisse agir avant la période de germination contrôlée par la lumière rouge sombre.

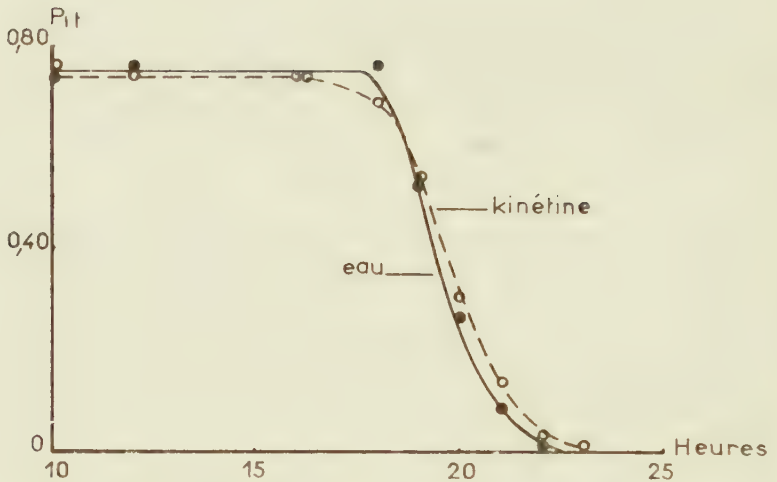


FIGURE 63. — Influence de la kinétine et de la lumière rouge sombre sur la germination des akènes de *Bidens radiata*.

— — — akènes exposés continuellement à la lumière rouge sombre, et semés sur un milieu contenant de la kinétine après un temps variable.

———— akènes humidifiés par l'eau, placés à l'obscurité pendant un temps variable puis exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre.

Etant donné que la lumière bleue est plus faiblement inhibitrice, il n'a pas été possible de faire une analyse aussi complète.

Toutefois le Tableau LXXIV indique les résultats obtenus à 28°C.

TABLEAU LXXIV

Influence de la kinétine* sur la germination des akènes exposés à un éclaircment continu de lumière bleue**.

Conditions	Solution	% de germination
obscurité continue	kinétine	59
obscurité continue	eau	62
lumière bleue continue	kinétine	58
lumière bleue continue	20 h eau puis kinétine	19

* kinétine : 5×10^{-5} M. ** lum. bleue : 400-480 mμ ; 35 μw/cm².

Dans ce cas également, la kinétine peut bloquer l'inhibition due à un éclaircissement de lumière bleue lorsqu'elle peut intervenir avant la période de la germination contrôlée par la lumière bleue.

La plupart des expériences sont réalisées avec des solutions de kinétine à 5×10^{-5} M. Des essais complémentaires montrent que des solutions à 10^{-5} M, n'ont aucune action et que des solutions à 10^{-4} M inhibent la germination.

c) conclusions.

La kinétine n'intervient pas dans le processus thermosensible. Par contre elle modifie la germination des akènes de *Bidens radiata* :

1) en accélérant la vitesse d'accroissement du pourcentage de germination,

2) en protégeant les akènes contre les effets néfastes des températures élevées,

3) en bloquant l'inhibition due au système rouge sombre — bleu.

Cette substance n'a pas d'influence sur le système rouge clair $\leftrightarrow$ rouge sombre.

La kinétine agit suivant une gamme de concentration très réduite puisqu'elle n'a pas d'activité à 10^{-5} M ; elle stimule à 5×10^{-5} M, et inhibe à 10^{-4} M.

4. — INFLUENCE DE L'ACIDE GIBBERELLIQUE.

a) germination à l'obscurité.

Les akènes, humidifiés par des solutions d'acide gibbéréllique de concentration comprise entre 100 et 500 ppm, sont placés à l'obscurité à 25°C. Le Tableau LXXV présente les résultats obtenus.

TABLEAU LXXV

Influence de l'acide gibbéréllique sur la germination*, à l'obscurité, d'akènes de *Bidens radiata*.

Concentration de GA ₃ en ppm	0	100	200	300	400	500
Pourcentage de germination	5	7	5	37	71	99

* température de l'expérience : 25°C.

L'acide gibbéréllique peut déterminer la germination de tous les akènes, à l'obscurité à une température de 25°C.

En utilisant des solutions à 500 ppm, il est possible d'étudier l'influence de l'acide gibbéréllique sur la germination, à des températures différentes de 25°C. Les résultats de cette expérience sont exposés dans le Tableau LXXVI.

TABLEAU LXXVI

Influence de l'acide gibbéréllique sur la germination des akènes de *Bidens radiata*, en fonction de la température.

Température en °C	15	20	22	24	25	26	30	33
Pourcentage de germina- tion	0	0	0	0	99	100	100	100

L'ensemble de ces résultats met en évidence la grande similitude qui existe entre l'action de l'acide gibbéréllique et celle de la lumière rouge clair. En dessous de 25°C aucun akène ne germe, mais dès que la température atteint 25°C le maximum de germination est obtenu.

Ainsi une étude détaillée de l'influence de l'acide gibbéréllique sur le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre s'impose.

b) germination à la lumière.

— Influence sur le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.

Si l'acide gibbéréllique agit sur la réaction contrôlée par la lumière rouge clair, des solutions à faibles concentrations de cette substance devraient diminuer la durée d'exposition à la lumière rouge clair nécessaire à la germination des akènes.

L'expérience suivante est réalisée pour vérifier cette hypothèse :

Les akènes humidifiés par une solution d'acide gibbéréllique à 100 ppm sont placés à l'obscurité pendant 24 heures. Le temps d'exposition nécessaire pour faire germer 50% des akènes est déterminé. Il est de 100 minutes. Si les akènes sont humidifiés par l'eau, une exposition de 150 minutes est indispensable pour obtenir le même pourcentage de germination.

Il est donc très probable que l'acide gibbérellique et la lumière rouge clair provoquent la même réaction.

Ces résultats suggèrent l'étude de l'influence de l'acide gibbérellique sur la réaction réversible rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.

Les akènes sont humidifiés soit par l'eau soit par une solution d'acide gibbérellique à 100 ppm.

Après exposition à la lumière rouge clair et rouge sombre, les akènes sont placés à l'obscurité. La température de l'expérience est de 26°C.

Le tableau LXXVII exprime les résultats obtenus.

TABLEAU LXXVII

Influence de l'acide gibbérellique sur la réaction rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre.

Traitement	Pourcentage de germination
24 h obscurité + 150 min. rouge clair*	56 $\pm$ 3
24 h obscurité + 150 min. rouge clair + 100 min. rouge sombre**	5 $\pm$ 1
24 h obscurité + 100 min. rouge clair + acide gibbérellique***	53 $\pm$ 2
24 h obscurité + 100 min. rouge clair + 100 min. rouge sombre + acide gibbérellique	55 $\pm$ 3

* lumière rouge clair : 630-680 m μ , 60 μ w/cm². ** lumière rouge sombre 700-750 m μ , 100 μ w/cm². ***solution à 100 ppm.

La lumière rouge sombre est incapable d'inhiber la stimulation de la germination provoquée par l'acide gibbérellique. Ces résultats confirment donc deux de nos hypothèses :

1) l'acide gibbérellique agit non pas sur le photorécepteur, comme le pensent certains auteurs, mais sur la réaction contrôlée par la lumière rouge clair.

2) la lumière rouge sombre et la lumière rouge clair ne provoquent pas des réactions opposées. Leur antagonisme s'exerce directement sur le photorécepteur.

— Influence sur le système rouge sombre — bleu.

Dans une première série d'expériences, les akènes, humidifiés par l'eau ou par une solution d'acide gibbéréllique (100 et 500 ppm), sont exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre de 20 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. Les résultats consignés dans le Tableau LXXVIII montrent que l'acide gibbéréllique n'a aucune influence sur la photoinhibition provoquée par la lumière rouge sombre.

TABLEAU LXXVIII

Influence de l'acide gibbéréllique sur le pourcentage de germination d'akènes exposés à un éclaircment continu de lumière rouge sombre.

Solution	Pourcentage de germination	
	28°C	32°C
eau	20	37
GA ₃ (100 ppm)	22	34
GA ₃ (500 ppm)	23	36

Des résultats identiques sont obtenus si les akènes sont exposés à un éclaircment continu de lumière bleue (Tableau LXXIX). La température de l'expérience est de 28°C.

TABLEAU LXXIX

Influence de l'acide gibbéréllique sur le pourcentage de germination d'akènes exposés à un éclaircment continu de lumière bleue.

Solution		Pourcentage de germination
lumière	eau	10 $\pm$ 2
	GA ₃ (100 ppm)	9 $\pm$ 3
	GA ₃ (500 ppm)	12 $\pm$ 3
obscurité	eau	45 $\pm$ 2

c) *conclusions.*

Le processus thermosensible n'est pas affecté par l'acide gibbérélique. Le processus photosensible est partiellement sous le contrôle de l'acide gibbérélique. Cette substance ne modifie pas la photoinhibition provoquée par le système rouge sombre — bleu, mais peut se substituer à la lumière rouge clair pour stimuler la germination : en effet, l'acide gibbérélique, à forte concentration, permet la germination de toutes les graines à l'obscurité à 25°C, et, à faible concentration, sensibilise les graines à la lumière rouge clair.

E. — **Conclusions sur la photostimulation de la germination des akènes de *Bidens radiata*.**

La germination des akènes de *Bidens radiata* est déterminée par deux processus totalement indépendants :

1) *un processus thermosensible* : La GERMINATION de tous les akènes peut-être obtenue A L'OBSCURITÉ À TEMPÉRATURE CONSTANTE ÉLEVÉE (33-34°C) OU EN ALTERNANCE DE TEMPÉRATURE. A des température constantes comprises entre 26° et 33°C, le pourcentage de germination est augmenté si les substances suivantes sont présentes dans le milieu de germination : NITRATES, NITRITES, THIOURÉE.

2) *un processus photosensible* : Ce processus est contrôlé par deux photoréactions qui interviennent à des MOMENTS DIFFÉRENTS de la germination. La germination des akènes présente trois phases bien distinctes, la phase d'hydratation, la phase prégerminative et la phase germinative, qui se termine lorsque la radicule a percé les téguments.

Dès que l'hydratation des semences est terminée, celles-ci deviennent sensibles à la lumière : la LUMIÈRE ROUGE CLAIR (630-680 m μ) stimule la germination à des températures qui ne la permettent pas à l'obscurité (25°C). Le pourcentage de germination est une fonction linéaire du logarithme de l'éclairement. Pour un niveau d'éclairement de 60 μ w/cm², la durée d'exposition nécessaire pour l'obtention du maximum de germination est de 180 minutes. Cette photoréaction est indépendante de la température.

Des éclaircements de faible durée de LUMIÈRE ROUGE SOMBRE (700-750 m μ) n'ont pas d'influence sur la germination mais ANNIHILIENT la STIMULATION provoquée par la LUMIÈRE ROUGE CLAIR. Pour un niveau d'éclairement de 100 μ w/cm², une exposition de 100 minutes à la lumière rouge sombre est suffisante pour éliminer la stimulation provoquée par une exposition de 180 minutes à la lumière rouge

clair ($60 \mu\text{w}/\text{cm}^2$). Cette réaction est également indépendante de la température. Une nouvelle exposition à la lumière rouge clair permet la germination des graines. Si une période d'obscurité est intercalée entre les deux éclairagements, la réversibilité d'action entre les lumières rouge clair et rouge sombre est moins forte. Cette diminution, qui est fonction de la durée de la période d'obscurité, ne se produit pas à basse température (0°C) et en absence d'oxygène.

Ainsi, dès la fin de l'hydratation des semences, c'est-à-dire dès le début de la phase prégerminative, un premier système contrôle la germination. Ce système fait intervenir deux zones de la lumière visible qui ont des actions antagonistes et réversibles : la lumière rouge clair stimule la germination ; la lumière rouge sombre annihile cet effet. L'acide gibbérellique peut remplacer la nécessité d'un éclairagement. Cette substance, à forte concentration, permet la germination des akènes à l'obscurité à 25°C , et, à faible concentration, diminue la durée d'éclairagement nécessaire à la germination, c'est-à-dire sensibilise les akènes à la lumière rouge clair.

Au cours de la TROISIÈME PHASE de la germination, un DEUXIÈME SYSTÈME intervient. Il présente des caractéristiques très différentes du précédent :

- une excitation continue du photorécepteur est nécessaire ;
- par contre, le niveau d'éclairagement peut être très faible ($1,5 \mu\text{w}/\text{cm}^2$) ;
- il inhibe la germination ;
- cette inhibition est due à la lumière rouge sombre (690-720 $\text{m}\mu$) et bleue (400-480 $\text{m}\mu$) ;
- la kinéline permet de supprimer cette photoinhibition.

II. - La photostimulation de la germination des graines de *Lythrum Salicaria*.

Il est indispensable de savoir si les conditions de germination des akènes de *Bidens radiata* représentent un cas particulier ou si, au contraire, elles sont les mêmes pour de nombreuses semences à photosensibilité positive.

Les graines de *Lythrum Salicaria* sont choisies pour cette étude complémentaire.

A. — Influence de la température et de la lumière.

L'influence de la température sur la germination à l'obscurité et à la lumière, est envisagée.

1. — GERMINATION A L'OBSCURITÉ.

Quelques rares germinations sont obtenues à des températures constantes (3% au maximum). Par contre, si les graines sont soumises à des alternances de température quotidiennes, un certain nombre d'entre elles germent. Les pourcentages de germination obtenus en fonction de diverses alternances de température sont réunis dans le Tableau LXXX.

TABLEAU LXXX

Influence des alternances de température sur le pourcentage de germination, à l'obscurité, des graines de *Lythrum Salicaria*.

Alternance de température en °C	25-35	15-25	5-25	10-30
Pourcentage de germination	19 ± 2	8 ± 1	44 ± 3	70 ± 2

2. — GERMINATION A LA LUMIÈRE.

Les graines sont placées à température constante ou en alternances de température et exposées à un éclaircment continu de lumière blanche (400-760mμ) de 500 μw/cm². Les résultats sont consignés dans le Tableau LXXXI.

TABLEAU LXXXI

Influence des conditions de température sur le pourcentage de germination de graines de *Lythrum Salicaria* exposées à un éclaircment continu de lumière blanche*.

Conditions de température	15	20	21	22	25	30	35	38	25-35	10-30
Pourcentage de germination	0	0	0	71 ±2	72 ±2	76 ±2	76 ±3	2 ±1	83 ±4	96 ±4

* 500 μw/cm².

Ces résultats permettent de conclure que la lumière ne stimule pas la germination à température inférieure à 22°C. A température constante supérieure à 22°C, 75 % des graines germent à la lumière. Seule la combinaison des alternances de température et de la lumière permet la germination de toutes les graines.

3. — CONCLUSIONS.

La germination des graines de *Lythrum Salicaria* peut se produire dans deux conditions différentes :

- à l'obscurité en alternances de température
- à la lumière à température constante.

Mais il faut également constater que la population des graines de *Lythrum Salicaria* présente une certaine hétérogénéité. En effet, 25% des graines ne germent pas à la lumière à température constante. Les alternances de température sont indispensables à leur germination.

Deux processus sont ainsi définis, l'un *thermosensible*, l'autre *photosensible*. Pour démontrer que ces processus sont indépendants, il faut étudier l'influence des diverses substances stimulant la germination mais auparavant il est nécessaire de mettre en évidence les caractéristiques du processus photosensible.

B. — Caractéristiques du processus photosensible.

Des expériences préliminaires montrent que seule la lumière de longueur d'onde comprise entre 600 et 800 mμ a une influence sur la germination.

1. — ACTION DE LA LUMIÈRE ROUGE CLAIR.

La lumière utilisée a une longueur d'onde comprise entre 630 et 680 mμ. Le niveau d'éclairement est de 60 μw/cm².

Les graines, humidifiées, sont placées pendant 24 heures à l'obscurité puis exposées à un éclairement de lumière rouge clair de durée variable et, enfin, transférées à l'obscurité. Pendant toute l'expérience la température est de 25° C. Le Tableau LXXXII et la figure 64 illustrent les résultats obtenus.

Le graphique de la figure 64 fait apparaître une certaine hétérogénéité parmi les graines de *Lythrum Salicaria*. Quatre populations peuvent être déterminées : A (50 %), B (10 %), C (15 %) et D (25 %). Les trois premières populations diffèrent par leur sensibilité à la lumière rouge clair. La population D est constituée par des graines qui ne germent pas à la lumière.

TABLEAU LXXXII

Pourcentage de germination des graines de *Lythrum Salicaria* en fonction de la durée de l'exposition à la lumière rouge clair*.

Durée d'exposition en heures	Pourcentage de germination	Durée d'exposition en heures	Pourcentage de germination
0	0	36	52 ± 1
8	4 ± 1	38	55 ± 2
12	8 ± 1	40	57 ± 3
17	20 ± 1	48	60 ± 2
22	40 ± 2	52	60 ± 4
24	48 ± 2	58	64 ± 3
30	50 ± 2	75	75 ± 2
34	50 ± 1	100	75 ± 3

* 630-680 mμ ; 60 μw/cm².

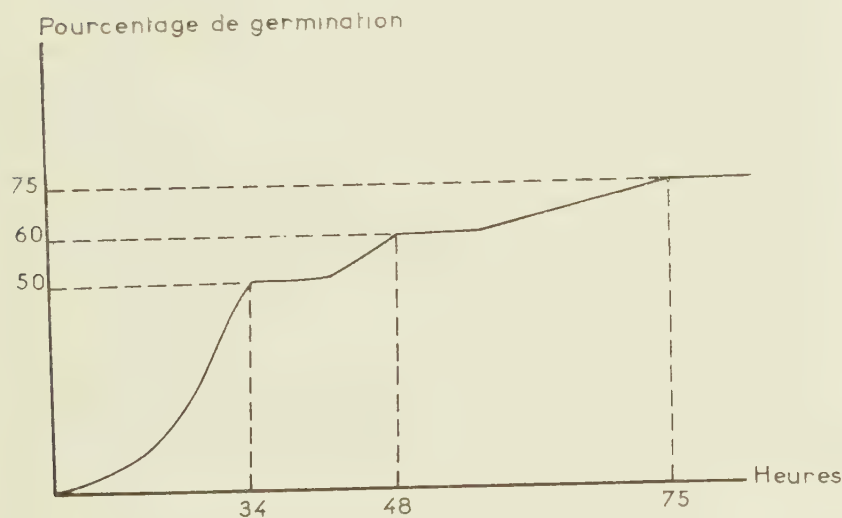


FIGURE 64. — Influence de la durée d'exposition à la lumière rouge clair sur le pourcentage de germination, à 22° C, des graines de *Lythrum Salicaria*.

2. — INFLUENCE DE LA LUMIÈRE ROUGE SOMBRE APRÈS EXPOSITION DES GRAINES A LA LUMIÈRE ROUGE CLAIR.

La lumière rouge sombre peut partiellement inhiber la stimulation due à la lumière rouge clair. L'expérience suivante le montre : les graines, humidifiées par l'eau, placées pendant 24 heures à l'obscurité, sont ensuite exposées pendant 34 heures à un éclaircissement de 60 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ de lumière rouge clair. Quelques lots de graines sont replacés à l'obscurité, alors que d'autres sont exposés à un éclaircissement de 100 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$ de lumière rouge sombre. Le temps d'exposition varie suivant les différents lots. Les résultats sont consignés dans le Tableau LXXXIII.

TABLEAU LXXXIII

Influence de la lumière rouge sombre* sur la stimulation de la germination provoquée par la lumière rouge clair**.

Durée d'exposition à la lumière rouge sombre (en heures)	0	3	5	8	12	24	48
Pourcentage de germination	50 $\pm$ 2	39 $\pm$ 3	40 $\pm$ 3	30 $\pm$ 5	28 $\pm$ 2	25 $\pm$ 1	26 $\pm$ 3

* lumière rouge sombre : 700-750 m μ ; 100 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

** lumière rouge clair : 34 heures ; 630-680 m μ ; 60 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$.

La lumière rouge sombre peut annihiler la stimulation due à la lumière rouge clair.

Mais cette lumière a, dans certains cas un effet direct sur la germination.

En effet, il est possible qu'un éclaircissement continu de lumière rouge sombre inhibe la germination des graines de *Lythrum Salicaria* comme cela a été constaté chez les akènes de *Bidens radiata*.

3. — ACTION D'UN ÉCLAIRCISSEMENT CONTINU DE LUMIÈRE ROUGE SOMBRE.

Les graines, humidifiées et placées en alternances de température, qui permettent normalement la germination à l'obscurité, sont exposées à un éclaircissement continu de lumière rouge sombre de 100 $\mu\text{w}/\text{cm}^2$. Les résultats obtenus sont réunis dans le Tableau LXXXIV.

TABLEAU LXXXIV

Influence d'un éclaircissement continu de lumière rouge sombre sur la germination des graines de *Lythrum Salicaria*.

Alternance de température		25-35°C	15-25°C	5-25°C	10-30°C
Pourcentage de germination	obscurité	19±2	8±1	41±3	69±3
	lumière rouge sombre	20±3	9±1	43±2	70±2

Un éclaircissement continu de lumière rouge sombre n'inhibe pas la germination.

4. — CONCLUSIONS.

La germination des graines de *Lythrum Salicaria* est stimulée par la lumière rouge clair (630-680 mμ). La lumière rouge sombre peut diminuer la stimulation provoquée par la lumière rouge clair.

Ces expériences montrent que l'hétérogénéité des graines de *Lythrum Salicaria* est très grande ; en effet, les différences de sensibilité des graines à la lumière rouge clair ont permis de déterminer quatre populations. De plus, l'étude de la réversibilité d'action entre les lumières rouge clair et rouge sombre démontre que la population A présente elle-même une certaine hétérogénéité. Il est donc impossible de faire une étude détaillée de l'influence de la lumière sur la germination.

L'analyse de la stimulation de la germination par certaines substances est, par contre, assez aisée ; il suffit de préciser pour chaque substance si elle modifie le pourcentage de germination en alternances de température à l'obscurité (processus thermosensible) ou si elle augmente la sensibilité des graines à la lumière (processus photosensible).

C. — Influence des substances stimulant la germination.

L'influence des nitrates, de la thiourée et de l'acide gibbérélique seront successivement envisagées.

1. — INFLUENCE DES NITRATES ET DES NITRITES.

a) germination à l'obscurité.

Les nitrates et les nitrites, en solution, à des concentrations comprises entre 10^{-3} et 10^{-2} %, n'ont pas d'effet sur la germination à température constante.

Par contre le nitrate de potassium peut stimuler la germination des graines soumises à des alternances de température, comme le montre le tableau LXXXV.

TABLEAU LXXXV

Influence de la concentration en nitrate de potassium sur le pourcentage de germination de graines de *Lythrum Salicaria* soumises à des alternances de température quotidiennes.

Concentration en NO_3K $\times 10^{-3}$	Pourcentage de germination		
	25-35°C	15-25°C	5-25°C
eau	19	8	41
1	35	17	48
2	62	27	80
5	55	24	77
10	37	19	60
20	20	7	49
50	7	3	33
100	2	1	5

Ces résultats permettent de constater que :

— le nitrate de potassium stimule la germination, en alternances de température, avec un maximum pour des concentrations voisinant 2×10^{-3} .

— à des concentrations supérieures à 2×10^{-3} la stimulation diminue

— à des concentrations supérieures à 2×10^{-2} le nitrate de potassium inhibe la germination.

Des expériences sont alors réalisées avec le nitrate d'ammonium, le nitrate de sodium et l'hydroxylamine. Le tableau LXXXVI expose les résultats obtenus avec l'alternance de température 5 - 25° C et pour la concentration optimale correspondant à chaque substance.

TABEAU LXXXVI

Influence du nitrate d'ammonium, du nitrate de sodium et de l'hydroxylamine sur la germination de graines de *Lythrum Salicaria* soumises à l'alternance de température 5 - 25°C

Nature de la solution	Concentration	Pourcentage de germination
eau		41
nitrate d'ammonium	1×10^{-3}	78
nitrate de sodium	1×10^{-3}	84
hydroxylamine	5×10^{-4}	86

Ainsi le pourcentage de germination de graines placées en alternances de température est fortement augmenté par les nitrates, les nitrites et l'hydroxylamine.

b) *germination à la lumière.*

Les graines, humidifiées par l'eau ou par une solution de nitrate de potassium à 2×10^{-3} , sont placées pendant 24 heures à l'obscurité, puis sont exposées à un éclairage de lumière rouge clair ($60 \mu\text{w}/\text{cm}^2$) de durée variable. Pendant toute l'expérience la température est de 22°C. Le tableau LXXXVII résume les résultats obtenus.

La présence de nitrates ne modifie pas les conditions d'action de la lumière rouge clair.

c) *conclusions.*

Les nitrates et les nitrites jouent un rôle très important dans le processus thermosensible. Pour une alternance de température donnée, le pourcentage de germination est très élevé si les graines sont humidifiées par une solution de nitrate ou de nitrite. L'hydroxylamine produit des effets similaires.

Ces mêmes substances ne modifient pas les conditions d'action de la lumière rouge clair.

TABLEAU LXXXVII

Influence de la lumière rouge clair sur le pourcentage de germination de graines de *Lythrum Salicaria*, humidifiées par l'eau ou par une solution de nitrate de potassium.

Durée d'exposition à la lumière (en heures)	Pourcentage de germination	
	eau	nitrate
0	0	0
8	4±1	6±1
16	20±2	19±2
30	48±2	50±3
40	59±2	55±3
58	64±2	67±4
75	74±3	77±3

2. — ACTION DE LA THIOURÉE.

a) germination à l'obscurité.

La thiourée n'a pas d'action sur la germination à température constante mais a, par contre, un effet assez net sur la germination en alternances de température, comme l'indique le tableau LXXXVIII

TABLEAU LXXXVIII

Influence de la thiourée* sur la germination de graines de *Lythrum Salicaria* soumises à des alternances de température.

Alternance de température		25-35°C	15-25°C	5-25°C	10-30°C
Pourcentage de germination	eau	19±2	8±1	41±3	70±2
	thiourée	40±3	19±2	95±4	100

* Solution à 0,1 %

b) *germination à la lumière.*

Les graines, humidifiées par une solution de thiourée à 0,1 %, sont exposées pendant un temps variable à un éclairage de lumière rouge clair (60 gw cm²). Les résultats sont consignés dans le tableau LXXXIX et comparés avec ceux qui sont obtenus lorsque les graines sont humidifiées par l'eau.

Pendant l'expérience la température est constante et égale à 22°C.

TABLEAU LXXXIX

Influence de la lumière rouge clair sur le pourcentage de germination de graines de *Lythrum Salicaria* humidifiées par une solution de thiourée à 0,1 %.

Durée d'exposition à la lumière (en heures)	Pourcentage de germination	
	eau	thiourée
0	0	0
8	4 ± 1	7 ± 2
16	20 ± 2	21 ± 3
30	48 ± 2	50 ± 3
40	59 ± 2	57 ± 2
58	64 ± 2	62 ± 3
75	74 ± 3	75 ± 3

La thiourée ne provoque pas de changement dans la sensibilité des graines à la lumière rouge clair.

c) *conclusions.*

L'influence de la thiourée est identique à celle des nitrates : elle stimule la germination à l'obscurité en alternance de température, et elle n'a aucune influence sur la sensibilité des graines à la lumière rouge clair.

3. — INFLUENCE DE L'ACIDE GIBBÉRELLIQUE.

a) germination à l'obscurité.

Le Tableau XC montre que l'acide gibbéréllique ne détermine pas la germination à température constante et ne la stimule pas en alternances de température.

TABLEAU XC

Influence de l'acide gibbéréllique sur la germination, à l'obscurité, de graines de *Lythrum Salicaria*.

Température en °C		15	22	30	25-35	15-25	10-30
Pourcentage de germination	eau	0	0	0	19±2	8±3	70±2
	GA ₃ 100 ppm	0	0	0	21±3	12±3	71±3
	GA ₃ 500 ppm	0	0	0	20±2	9±2	70±2
	GA ₃ 1000 ppm	0	0	0	21±3	10±3	69±3

b) germination à la lumière.

Les graines, humidifiées par une solution d'acide gibbéréllique, ne germent pas à l'obscurité à température constante. Cette substance n'élimine donc pas la nécessité d'un éclaircissement.

Il se peut cependant que l'acide gibbéréllique modifie la sensibilité des graines à la lumière rouge clair.

Pour vérifier cette hypothèse l'expérience suivante est réalisée : les graines, humidifiées par une solution d'acide gibbéréllique à 100, 500 ou 1000 ppm sont placées à l'obscurité pendant 24 heures, puis exposées à un éclaircissement de 60 µw/cm² de lumière rouge clair.

Les durées d'exposition à la lumière nécessaires à l'obtention de 50 % de germination sont indiquées dans le Tableau XCI.

Cette expérience montre que la sensibilité des graines à la lumière augmente si elles sont humidifiées par une solution d'acide gibbéréllique. Cette substance et la lumière rouge clair ont un effet synergique.

TABLEAU XCI

Influence de l'acide gibbéréllique sur la sensibilité des graines de *Lythrum Salicaria* à la lumière rouge clair.

Solutions	eau	GA ₃ 100 ppm	GA ₃ 500 ppm	GA ₃ 1000 ppm
Heures d'exposition nécessaires à l'obtention de 50 % de germination.	34	32	25	12

c) *conclusions.*

L'acide gibbéréllique n'a aucune influence sur le processus thermosensible mais modifie les conditions d'action de la lumière. En effet, si l'acide gibbéréllique ne peut supprimer la nécessité d'un éclaircissement, il sensibilise les graines à la lumière rouge clair.

D. — **Conclusions sur la photostimulation de la germination des graines de *Lythrum Salicaria*.**

La germination des graines de *Lythrum Salicaria* est déterminée par deux processus, l'un thermosensible, l'autre photosensible qui sont indépendants. En effet :

— la germination peut être obtenue par l'un des deux processus ;

— les meilleures conditions d'éclaircissement permettent la germination de 75 % des graines ; les autres ne germent qu'en alternances de température ;

— certaines substances n'interviennent que dans le processus thermosensible (nitrates, nitrites, hydroxylamine), d'autres agissent uniquement sur le processus photosensible (acide gibbéréllique).

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Il faut maintenant dégager la signification des résultats obtenus. Le plan adopté diffère de celui qui a été suivi dans la partie expérimentale : il est établi de façon à montrer l'enchaînement des mécanismes qui contrôlent la germination des graines à photosensibilité positive et négative.

Considérons d'abord les semences dont la germination est à photosensibilité positive. Si les akènes de *Bidens radiata* sont semés sur papier filtre humide, on constate, pendant quelques heures, à 25°C., une augmentation du poids de matière fraîche et une élévation de l'intensité respiratoire. Ces phénomènes cessent vers la sixième heure : la première phase de la germination appelée PHASE D'HYDRATATION est terminée.

Les semences présentent alors une TRÈS GRANDE SENSIBILITÉ A LA LUMIÈRE ROUGE CLAIR (630-680 m μ) ; en effet, les akènes ne germent pas à l'obscurité, à la température de 25° C., à moins qu'ils aient été exposés, pendant un temps relativement court, à la lumière rouge clair. Une exposition de 150 minutes à un éclairnement de 60 μ w/cm² de lumière rouge clair suffit pour obtenir la germination, à l'obscurité, de 50 % des semences.

Le pourcentage de germination est une fonction logarithmique du temps d'exposition et du niveau d'éclairement, donc de la dose de lumière reçue par les akènes. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par POWELL sur les graines de Tabac (85).

Si l'exposition à la LUMIÈRE ROUGE CLAIR est immédiatement suivie d'une autre à la LUMIÈRE ROUGE SOMBRE (730 m μ), on constate une diminution du pourcentage de germination : une exposition de 100 minutes à la lumière rouge sombre (100 μ w/cm²) supprime la stimulation due à un éclairnement de 180 minutes de lumière rouge clair (60 μ w/cm²).

L'action de la lumière rouge sombre est une fonction linéaire de la durée de l'éclairement. Une relation identique a été mise en évidence par SHROPSHIRE, KLEIN et ELSTAD chez les graines d'*Arabidopsis thaliana* (97).

Si une période d'obscurité est intercalée entre les expositions aux lumières rouge clair et rouge sombre, l'effet de cette dernière

lumière est moins intense. Il existe une relation linéaire entre la diminution de l'influence de la lumière rouge sombre et la durée de la période d'obscurité.

Ce phénomène se produit uniquement dans certaines conditions. En effet, si pendant la période obscure, les akènes sont placés à basse température (0° C) il faut un temps beaucoup plus long pour que la lumière rouge sombre perde son influence. L'action de cette lumière demeure entière si les akènes sont transférés, pendant le séjour à l'obscurité, en atmosphère d'azote.

Des faits à peu près similaires ont été mis en évidence par IKUMA et THUMANN chez les akènes de Laitue variété « Grand-Rapids » (50).

L'ACIDE GIBBÉRELLIQUE et la LUMIÈRE ROUGE CLAIR ont parfois la MÊME INFLUENCE. V. K. TOOLE et CATHEY (120) ont observé que l'acide gibbéréllique, à forte concentration, provoquait la germination à l'obscurité alors qu'à faible concentration, il diminuait la durée de l'éclairement nécessaire à la germination. C'est un fait que nous avons remarqué chez les akènes de *Bidens radiata* : des solutions à 500 ppm permettent la germination de tous les akènes à l'obscurité à 25° C, alors que des solutions à 100 ppm ne font que réduire le temps d'exposition à la lumière rouge clair nécessaire à la germination. V. K. TOOLE et CATHEY ont cru pouvoir expliquer des différences analogues par des variations dans la pureté de l'acide gibbéréllique du commerce ou encore par la stabilité plus ou moins grande des solutions. Il nous semble que l'hypothèse d'une pénétration plus ou moins importante de l'acide gibbéréllique dans les semences soit plus valable : l'acide gibbéréllique traverse plus ou moins difficilement les téguments et le péricarpe de certaines semences. C'est le cas, par exemple, des graines de Ricin (remarque personnelle de P. CHOUARD).

La stimulation de la germination par l'acide gibbéréllique ne peut pas être supprimée par une exposition des akènes de *Bidens radiata* à la lumière rouge sombre. Ce résultat, déjà obtenu chez les akènes de Laitue, a fait penser à LONA (66) ainsi qu'à FUJII, ISUKAWA et NAKAWARA (30) que l'acide gibbéréllique ne produisait pas la même réaction que la lumière rouge clair. Cette hypothèse ne semble pas convenir car il existe une relation très étroite entre la concentration des solutions en acide gibbéréllique et la quantité de lumière rouge clair nécessaire à la germination : toute augmentation de la concentration des solutions en acide gibbéréllique permet de diminuer la durée de l'éclairement indispensable à l'obtention de la germination (96).

L'ensemble de ces résultats montre bien que les lumières rouge clair et rouge sombre ne produisent pas des réactions biochimiques opposées. LEUR ANTAGONISME SE SITUE DONC BEAUCOUP PLUS PROBABLEMENT AU NIVEAU DU PHOTORÉCEPTEUR.

Lorsqu'on rencontre une induction de la germination de ce type, elle doit pouvoir être interprétée de la manière suivante :

1) LA PHASE D'EXCITATION PHOTOCHEMIQUE du pigment par la lumière rouge clair ; la lumière rouge sombre annihile réversiblement cet effet.

2) LA PHASE ACTIVE MÉTABOLIQUE : le photorécepteur excité détermine une réaction biochimique qui est capitale pour la germination.

Les travaux de BORTHWICK et de ses collaborateurs permettent d'expliquer l'existence de ces deux phases (9, 10 11). Ils ont montré que le photorécepteur ou « phytochrome » était une enzyme présente sous deux formes, l'une inactive absorbant la lumière à 660 m μ , l'autre active absorbant la lumière à 730 m μ . Les lumières rouge clair et rouge sombre ont des effets antagonistes parce qu'elles produisent une modification de la configuration moléculaire du « phytochrome » qui se trouve alors dans sa forme active ou, au contraire, inactive.

L'interprétation maintenant classique de BUTLER et coll. explique très bien les résultats obtenus chez *Bidens radiata* et *Lythrum Salicaria*.

La germination exige, en général, une assez faible quantité de lumière rouge clair (environ 1 heure pour un éclaircissement de 60 μ w/cm²). C'est pour cette raison que le système réversible rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre a été appelée par MOUR, système à « faible énergie » (74). Il faut cependant remarquer que la germination des graines de *Lythrum Salicaria* nécessite une forte dose de lumière rouge clair (environ 60 heures pour un éclaircissement de 60 μ w/cm²) ; mais peut-être existe-t-il dans ce cas un facteur qui limite l'action de la lumière rouge clair.

Après exposition à la lumière rouge clair, le processus de germination se développe si aucun facteur ne vient contrarier la photoinduction. Les semences restent alors pendant un certain nombre d'heures dans une période de stabilité relative : l'intensité respiratoire ne varie pas sensiblement, aucune croissance apparente ne se produit. Pendant cette phase de germination, appelée « phase prégerminative », les semences de *Bidens radiata* ne sont absolument pas sensibles à la lumière. La durée de cette phase, pour une même espèce, est assez variable d'une semence à l'autre

ce qui explique l'étalement des germinations dans le temps. Elle se déroule, à 25° C, entre la sixième et la dix-huitième heure pour les akènes dont la germination est la plus rapide.

Les semences entrent ensuite dans la troisième phase de la germination qui débute par une rapide augmentation de l'intensité respiratoire. Au bout de quelques heures la radicule commence à croître par élongation de ses cellules, l'activité mitotique devenant nette après que la radicule ait percé les téguments et le péricarpe.

AU DÉBUT DE CETTE PHASE dite « germinative », les akènes de *Bidens radiata* sont de nouveau SENSIBLES A LA LUMIÈRE ; mais dans ce cas il se produit une photoinhibition dont les lumières rouge sombre (690-730 mμ) et bleue (440 mμ) sont responsables.

Cette inhibition nécessite une EXCITATION CONTINUE du photo-récepteur. La lumière rouge sombre est beaucoup plus active que la lumière bleue mais leurs actions sont identiques et peuvent se remplacer l'une par l'autre : la photoinhibition, indépendante de la température pendant l'irradiation, est une fonction linéaire du logarithme de l'éclairement. Elle cesse dès que l'éclairement est interrompu.

La lumière rouge sombre exerce ainsi DEUX INFLUENCES SUR la germination des akènes de *Bidens radiata* :

a) ELLE SUPPRIME REVERSIBLEMENT LA STIMULATION DUE A LA LUMIÈRE ROUGE CLAIR. Cette action qui se situe à la fin de la phase d'hydratation nécessite de faibles quantités de lumière. La longueur d'onde optimale est voisine de 730 mμ.

b) ELLE INHIBE LA GERMINATION, plus tard, AU DÉBUT DE LA PHASE GERMINATIVE. Un éclaircissement continu est alors indispensable car l'effet n'est pas rémanent. La longueur d'onde optimale est peu différente de 710 mμ. Cet effet est exercé également par la lumière bleue. Les graines sont sensibles à ces lumières uniquement au début de la phase germinative.

Si la croissance de la radicule a commencé, les semences germent même si elles sont exposées à la lumière.

Ces résultats permettent d'expliquer que la lumière blanche (400-800 mμ) puisse stimuler ou inhiber la germination suivant la durée de l'éclairement :

1) LA LUMIÈRE BLANCHE STIMULE TOUJOURS LA GERMINATION MÊME QUAND L'ÉCLAIREMENT EST DE LONGUE DURÉE. S'il en est ainsi il existe deux possibilités :

a) le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre est seul présent ; l'exemple en est fourni par les graines de *Lythrum Salicaria*.

b) les deux systèmes rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre et rouge sombre-bleu existent mais la germination n'est pas toujours inhibée par un éclaircissement continu parce que les semences possèdent d'autres voies de germination. Les akènes de *Bidens radiata* se comportent ainsi. MOURA a obtenu des résultats identiques chez les akènes de Laitue variété « Grand-Rapids » (*) bien que de nombreux auteurs affirment que leur germination soit uniquement contrôlée par le phytochrome (10, 23, 113).

2) UN ÉCLAIREMENT DE COURTE DURÉE DE LUMIÈRE BLANCHE STIMULE LA GERMINATION ALORS QU'UNE EXPOSITION DE LONGUE DURÉE L'INHIBE. Les deux système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre et rouge sombre-bleu, sont présents et les semences ne possèdent pas d'autres voies pour parvenir à germer. Si l'éclaircissement est court, le phytochrome seul intervient, ce qui détermine la germination des semences. Dans le cas d'un éclaircissement de longue durée, le système rouge sombre-bleu intervient plus tard en inhibant la germination. Ces faits peuvent expliquer les observations faites par KADMAN ZAHAVI sur les graines d'*Amarantus retroflexus* (55).

Une méthode pour empêcher la photoinhibition consiste à humidifier les akènes de *Bidens radiata* par une solution de kinétine (5×10^{-5} M). Dans tous les cas, il est indispensable que la kinétine soit présente dans les tissus de l'embryon avant que se produise la réaction de photoinhibition.

Considérons maintenant les graines dont la germination est à photosensibilité négative.

Les graines de *Phacelia tanacetifolia* et de *Vernophila insignis* sont sensibles à la lumière rouge clair dès que leur hydratation est achevée. La longueur d'onde optimale est voisine de 660 m μ . Ces faits plaident en faveur de la présence du phytochrome chez les graines à photosensibilité négative.

Des arguments vont cependant à l'encontre de cette hypothèse :

a) la lumière rouge clair inhibe la germination de ces graines à photosensibilité négative alors qu'elle stimule celle des graines à photosensibilité positive. Ce fait peut ne pas être capital ; en effet, le phytochrome semble capable aussi de produire des actions opposées sur la mise à fleur des plantes de jours courts et de jours longs.

(*) Communication personnelle.

b) l'inhibition de nos semences exige une excitation continue du pigment alors que la stimulation, chez les graines à photosensibilité positive, peut être provoquée par un éclaircissement de courte durée. On peut concevoir que l'inhibition cesse si le phytochrome, par suite de l'arrêt de l'éclaircissement, se transforme rapidement à l'obscurité dans sa forme inactive.

c) l'antagonisme entre les lumières rouge clair et rouge sombre n'est pas nettement défini. Ceci tient au fait que l'interaction réversible entre les deux lumières est difficile à mettre en évidence, si elle existe, parce que l'action de la lumière rouge clair nécessite un éclaircissement continu, sans effet rémanent, ensuite parce que la lumière rouge sombre a une action inhibitrice spécifique. Toutefois en adoptant certains artifices expérimentaux, il a été possible de montrer ici l'existence d'un antagonisme, d'ailleurs assez faible, entre les lumières rouge clair et rouge sombre.

EN CONCLUSION, IL SEMBLE ACCEPTABLE DE SUPPOSER LA PRÉSENCE DU PHYTOCHROME DANS LES GRAINES A PHOTOSENSIBILITÉ NÉGATIVE ET SON INTERVENTION POSSIBLE AU DÉBUT DE LA GERMINATION, A LA FIN DE LA PHASE D'HYDRATATION.

Si les graines ne sont pas exposées à la lumière rouge clair, le processus de germination continue par la phase prégerminative pendant laquelle les graines ne sont pas sensibles à la lumière. La durée de cette phase varie selon les espèces mais aussi selon les graines d'une même espèce.

Les graines entrent ensuite dans la phase active de la germination ou PHASE GERMINATIVE. DÈS LE DÉBUT de celle-ci, les graines deviennent ici SENSIBLES A LA LUMIÈRE. Les radiations de longueur d'onde voisines de 710 m μ et de 440 m μ inhibent la germination. La lumière rouge sombre est beaucoup plus active que la lumière bleue : l'inhibition de la germination de 50 % des graines est obtenue par un éclaircissement continu de lumière bleue de 30 μ w/cm² ou par un éclaircissement de lumière rouge sombre de 3 μ w/cm² ; en rapportant ce résultat à l'énergie quantique, on constate que la lumière rouge sombre est seize fois plus active que la lumière bleue. Ce fait peut avoir pour origine le spectre d'absorption du photorécepteur ou être dû à la présence d'un écran de chlorophylles et de caroténoïdes dans les téguments et le péricarpe. Nos expériences démontrent l'existence de tels pigments dans les graines de *Phaseolus tanacetifolia* : ils pourraient intervenir en absorbant une grande partie de la lumière bleue. Cette hypothèse semble confirmée par les observations de MOHR sur la photomorphogénèse des hypocotyles étiolés : cet auteur constate que les lumières

rouge sombre et bleue inhibent aussi la croissance et que le rapport des activités est de 3/1. L'absence de chlorophylles et de caroténoïdes permet une plus grande activité de la lumière bleue.

La kinétine n'a aucune influence sur la photoinhibition de la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia* et *Nemophila insignis*. Les conditions qui permettent la germination de ces graines, exposées à la lumière rouge sombre ou bleue, varient suivant la température. La photoinhibition ne se produit pas à 22° C (*Phacelia tanacetifolia*) et à 20° C (*Nemophila insignis*) si les graines sont semées sur un milieu contenant de L'ACIDE GIBBÉRELLIQUE (3×10^{-4}) et de L'ACIDE INDOLYLACÉTIQUE 6×10^{-4} . L'ACIDE GIBBÉRELLIQUE, seul, a les mêmes effets si la température de la germination est de 15° C.

Il n'est pas indispensable que les graines soient humidifiées par des solutions de ces substances de croissance ; par contre, il importe qu'elles puissent agir avant que se produise la réaction de photoinhibition, c'est-à-dire avant la huitième heure chez *Phacelia tanacetifolia* et avant la vingt-deuxième heure chez *Nemophila insignis*.

Nos expériences montrent que les différences dans le comportement des graines suivant la température dépendent de l'évolution des auxines endogènes. Les graines « sèches » de *Phacelia tanacetifolia* et de *Nemophila insignis* CONTIENNENT dans leurs tissus une SUBSTANCE DE CROISSANCE de type AUXINIQUE. La quantité de cette substance présente dans les graines reste constante au cours de la germination à 15° C, alors qu'elle diminue rapidement à 22° C. Elle a presque totalement disparu six heures après le début de l'hydratation chez *Phacelia tanacetifolia*, et après vingt-deux heures chez *Nemophila insignis*, ce qui implique la nécessité d'ajouter de l'acide indolylacétique au milieu de germination.

L'acide gibbérellique agit donc toujours ici en synergisme avec l'acide indolylacétique qui est ENDOGÈNE dans le premier cas et qui doit provenir d'une origine EXOGÈNE dans le second cas.

La substance endogène de type auxinique présente des PROPRIÉTÉS ANALOGUES à celles de l'acide indolylacétique ; mais le fait qu'elle soit acide, qu'elle ait même Rf que l'acide indolylacétique et qu'elle donne des réactions colorées positives avec les réactifs d'EHRlich et de SALKOWSKI, ne permet pas d'affirmer de manière certaine qu'il s'agisse d'acide indolylacétique. Le manque de matériel végétal n'a pas permis de pousser plus loin ces recherches.

Si les graines ne sont pas exposées aux lumières rouge sombre ou bleue, la radicule commence à croître et perce les téguments. A ce moment là, la germination est terminée.



L'ensemble de ces faits démontre d'une manière précise l'EXISTENCE D'UN SYSTÈME ROUGE SOMBRE $\rightleftharpoons$ BLEU INDÉPENDANT DU SYSTÈME ROUGE CLAIR $\rightleftharpoons$ ROUGE SOMBRE. Ces résultats sont importants car ils apportent des preuves flagrantes à la théorie de MOHR qui diffère de celle de BORTHWICK, HENDRICKS et collaborateurs : en effet, les systèmes photorécepteurs, mis en évidence lors de l'étude de la germination, contrôlent également des phénomènes tels que la croissance des hypocotyles (10, 74), des entrenœuds et des cotylédons ainsi que la formation des anthocyanes (74).

BORTHWICK, HENDRICKS, E. H. TOOLE et V. K. TOOLE considèrent que l'effet obtenu par un éclaircissement continu et intense de lumière rouge sombre (690 - 720 m μ) est dû uniquement à une absorption simultanée de la lumière par les deux formes du phytochrome (9, 46). Selon ces mêmes auteurs, ce photorécepteur présente un pic d'absorption dans le bleu ce qui explique l'influence d'un éclaircissement continu de cette lumière. Pour MOHR, au contraire, la seule explication plausible des résultats obtenus est l'existence d'un autre photorécepteur qui absorbe les lumières rouge sombre et bleue et qu'il nomme « système à haute énergie » (72, 73, 74, 75). Un argument dans l'interprétation de MOHR réside dans l'exemple d'un antagonisme entre les deux systèmes sur la formation du « crochet » par les plantules de Laitue : le système rouge clair $\rightleftharpoons$ rouge sombre détermine réversiblement la formation du crochet alors que le système rouge sombre - bleu en contrôle l'ouverture ultérieurement (78).

Nos expériences apportent une preuve analogue mais plus forte et plus étendue en faveur de la co-existence de deux photorécepteurs différents car elles permettent de les dissocier :

1) *dans leur effet* : la germination des akènes de *Bidens radiata* EST STIMULÉE par le SYSTÈME ROUGE CLAIR $\rightleftharpoons$ ROUGE SOMBRE et INHIBÉE par le SYSTÈME ROUGE SOMBRE - BLEU :

2) *dans le temps* : les semences sont sensibles au SYSTÈME ROUGE CLAIR $\rightleftharpoons$ ROUGE SOMBRE dès LA FIN de leur HYDRATATION (fin de la première phase de la germination) alors que le SYSTÈME ROUGE SOMBRE-BLEU INHIBE la GERMINATION au DÉBUT de sa TROISIÈME PHASE ;

3) *dans leur localisation* : certaines semences possèdent les DEUX SYSTÈMES (*Bidens radiata*) alors que d'autres ne sont SENSIBLES qu'à l'UN DES DEUX : la germination des graines de *Lythrum Salicaria* est influencée uniquement par le phytochrome.

Il est bien certain que la germination est contrôlée par d'autres facteurs que la lumière ; ces facteurs semblent parfois modifier la photosensibilité des graines. C'est ainsi que les akènes de *Bidens radiata* et les graines de *Lythrum Salicaria* germent à l'obscurité en alternances de température.

Nos expériences montrent que l'action des alternances de température peut être indépendante de celle de la lumière pour les raisons suivantes :

1) 25 % des graines de *Lythrum Salicaria* ne germent qu'en alternances de température, la lumière ne permettant pas leur germination à température constante ;

2) certaines substances stimulent la germination de semences placées à l'obscurité à température constante élevée, ou en alternances de température ; par contre, elles ne suppriment pas la nécessité d'un éclaircissement et ne modifient pas la sensibilité des graines à la lumière.

Les substances ainsi définies sont les suivantes :

a) les nitrates qui, en solution à la concentration de 1×10^{-2} , augmentent le pourcentage de germination à l'obscurité des akènes de *Bidens radiata*, placés à température constante ou en alternances de températures, et des graines de *Lythrum Salicaria* soumises à des alternances de température.

Le rôle des nitrates dans la germination est cependant assez discuté. Ainsi, MAIER pense que les nitrates augmentent la sensibilité des graines à la lumière (68-69) ; cette hypothèse est soutenue par BORTHWICK et HENDRICKS qui croient que les nitrates changent les niveaux d'oxydants et de réducteurs intervenant dans la photoréaction (10).

Il apparaît pourtant CLAIEMENT QUE L'ACTION DES NITRATES N'A PAS ICI DE LIEN AVEC CELLE DE LA LUMIÈRE. En plus de nos expériences, il faut citer les observations de GASSNER sur les graines de *Chloris ciliata* (32) : alors que les nitrates ne font que stimuler la germination aux diverses températures, l'influence de la lumière est, par contre, fonction de la température (inhibition à température inférieure à 22° C ; stimulation à température supérieure à 22° C). De même, LEGATT (61), à la suite de recherches effectuées sur les graines d'*Agrostis*, écrit en 1946 que « les nitrates qui sont utilisés pour une substitution partielle de la lumière, semblent avoir un effet physiologique entièrement différent ».

b) la thiourée qui, en solution à 0,1 %, stimule la germination à l'obscurité des semences de *Bidens radiata* et de *Lythrum Salicaria*, soumises à des alternances de températures, et qui ne modifie pas les conditions d'action des systèmes photorécepteurs.

La figure 65 récapitule, sous forme d'un schéma, les différentes actions de la lumière, de la température et des substances de croissance sur la germination des semences à photosensibilité positive et négative.

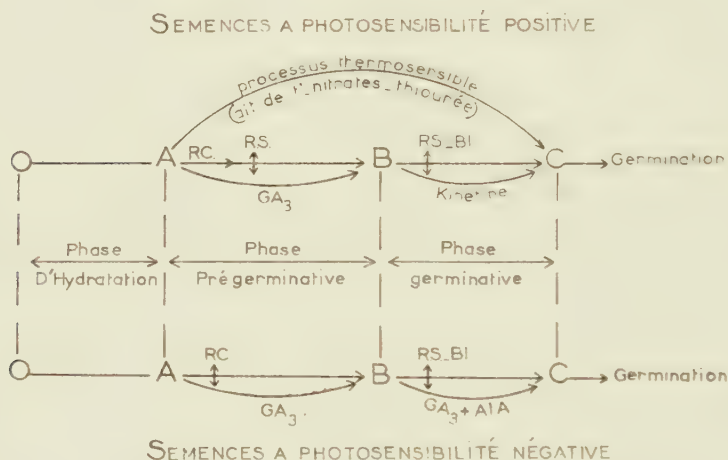


FIGURE 65. — Schéma récapitulant l'action des différents facteurs sur les trois phases de la germination.

..

Certaines températures peuvent être parfois néfastes à la germination. Ainsi, les akènes de *Bidens radiata* ne germent pas à la lumière à température constante inférieure à 25° C. Pour un écart de 1° C, la réponse peut être totalement DIFFÉRENTE : à 24° C le pourcentage de germination est nul ; à 25° C tous les akènes germent.

Un autre exemple est fourni par les graines de *Phacelia tanacetifolia* et de *Vernophila insignis* qui ne germent pas à température supérieure à 24° C. Il se développe alors une thermodormance induite possédant des caractéristiques spécifiques.

La présente étude de la physiologie de la germination des semences photosensibles permet de comprendre des faits qui, jusqu'ici, étaient restés confus.

Nos expériences ont contribué à mettre en évidence deux systèmes photorécepteurs dont l'existence avait échappé à de nombreux chercheurs parce que les conditions expérimentales n'étaient pas assez précises. En effet, considérons le cas des akènes de *Bidens radiata* : la LUMIÈRE ROUGE SOMBRE EXERCE DEUX ACTIONS DIFFÉRENTES SUR LA GERMINATION, l'une qui consiste à L'INHIBER et l'autre qui se résume à une SUPPRESSION de la STIMULATION provoquée par la LUMIÈRE ROUGE CLAIR. Si l'on tient compte de nos données et de celles de MOHR, BORTHWICK et HENDRICKS, on se trouve en présence de trois zones actives de la lumière visible qui s'imbriquent les unes dans les autres. En effet, la lumière de longueur d'onde comprise entre 630 et 690 mμ stimule la germination avec un maximum vers 660 mμ : la lumière rouge sombre de longueur d'onde comprise entre 720 et 750 mμ supprime cette stimulation avec un maximum à 735 mμ. La lumière rouge sombre de longueur d'onde située entre 680 et 725 mμ inhibe la germination : l'efficacité maximale correspond à une longueur d'onde de 710 mμ.

Pour mettre en évidence ces trois zones actives de la lumière, il faut utiliser des filtres dont la pureté spectrale a été bien précisée ; d'autre part, il est nécessaire d'étudier pour chaque lumière l'influence de la durée et du niveau d'éclairement ; enfin il est indispensable d'étudier l'action de ces lumières en tenant compte de leur énergie quantique. De très nombreuses publications, intéressantes par les faits, ne peuvent pas être interprétées correctement parce que ces conditions, d'ailleurs difficiles à satisfaire, n'ont pas été respectées.

Certains peuvent penser à bon droit qu'il eût été intéressant de déterminer le mode d'action de la lumière dans un cas bien précis. Il nous semble cependant que cette étude d'ensemble devait tout d'abord être faite parce qu'il n'est pas possible d'étudier l'action de la lumière sur le métabolisme avant d'avoir précisé quels étaient les autres facteurs susceptibles de la modifier ou de la masquer.

Il est maintenant aisé d'orienter les recherches dans deux voies différentes qui sont d'une part l'étude des réactions métaboliques contrôlées par les deux systèmes photorécepteurs et d'autre part l'isolement du photorécepteur responsable de l'action des lumières rouge sombre et bleue.

BIBLIOGRAPHIE

1. — ALCORN (S.M.) and KURTZ (E.B.) Some factors affecting the germination of seed of Saguaro Cactus (*Carnegie gigantea*). *Am. J. Bot.*, 46 (7), 526-9, 1959.
2. — BAAR (H.) Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Samenkeimung und seine Abhängigkeit von äusseren Faktoren. *Sitzber. Akad. Wiss. Wien., Math. naturw. Kl. Abt. 1* (121), 667-705, 1912.
3. — BAXTER-JONES (M.) and BAILEY (L.F.) Light effects on the germination of seeds of Henbit (*Lamium amplexicaule* L.) *Plant Physiol.*, 31, 347-9, 1956.
4. — BLACK (M.) and WAREING (P.F.) Photoperiodic control of germination in seed of Birch (*Betula pubescens* Ehr.) *Nature*, 174, 705, 1954.
5. — BLACK (M.) and WAREING (P.F.) Sensitivity of light inhibited seeds to certain spectral regions. *Nature*, 180 395, 1957.
6. — BLACK (M.) and WAREING (P.F.) Photoperiodism in the light inhibited seed of *Nemophila insignis*. *J. Exptl. Bot.*, 11, 31, 1959.
7. — BLACK (M.) and WAREING (P.F.) The inhibition of germination of seeds by radiation. *Intern. Bot. Congress*, 11 A, 2-3, 1959.
8. — BORTHWICK (H.A.), HENDRICKS (S.B.), TOOLE (E.H.) and TOOLE (V.K.) Action of light on Lettuce seed germination. *Bot. Gaz.* 115 (3), 205-25, 1954.
9. — BORTHWICK (H.A.) and HENDRICKS (S.B.) Photoperiodism in plants. Growth is controlled by light and the measurement of night length through reversible reaction of a pigment. *Science* 132, 1223-8, 1960.
10. — BORTHWICK (H.A.) and HENDRICKS (S.B.) Effects on radiation on growth and development. *Handbuch der Pflanzenphysiologie* XVI, 229-330, 1961.
11. — BUTLER (W.L.), NORRIS (K.H.), SIEGELMAN (H.W.) and HENDRICKS (S.B.) Detection, assay and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plant. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 45 (12), 1703-8, 1959.
12. — CALDECOTT (R.S.) and SMITH (L.) A study of X-ray induced chromosomal aberrations in Barley. *Cytologia (Japan)*, 17, 224-42, 1952.
13. — CHOUARD (P.) *Dormances et inhibitions des graines et des bourgeons*. C.D.U., Paris, 1-90, 1954.
14. — CIESLAR (A.) Untersuchungen über den Einfluss des Lichtes auf die Keimung. *Forsch. Gebiete, Agrikultur-physik*, 6, 270-93, 1883.

15. — COHEN (D.) The mechanism of germination stimulation by alternating temperatures. *Bull. Res. Council. Israël*, 6 D, 111-7, 1958.
16. — COLBY (V.L.) Factors affecting the germination of reed canary grass seed. *Assoc. off. Seed Analysts*, 47, 1-15, 1953.
17. — CROCKER (W.) *Growth of plants*. Reinhold Publish. Corporation, N.Y. 459 p., 1948.
18. — CROCKER (W.) and BARTON (L.V.) *Physiology of seeds*. Waltham Mass U.S.A., 267 p., 1953.
19. — CUMMING (B.G.) Extreme sensitivity of germination and photoperiodic reactions in the genus *Chenopodium* L., *Nature*, 182, 1044-5, 1959.
20. — CUMMING (B.G.) and HAY (J.R.) Light and dormancy in Wild Oats (*Avena fatua*). *Nature*, 182, 609-10, 1958.
21. — DEYSSON (G.) La kinetine, nouvelle hormone de croissance végétale. *Bull. Soc. Bot. Fr.*, 106, 369-87, 1959.
22. — EVENARI (M.) Seed germination. In *Radiation Biology* III, 519-49, Mc Graw Hill Book CO. Inc., 1956.
23. — EVENARI (M.) Les problèmes physiologiques de la germination *Bull. Soc. Fr. Physiol. vég.* 3 (4), 105-21, 1957.
24. — EVENARI (M.), KLEIN (S.), ANCHORI (H.) and FEINERUN (N.) The beginning of cell division and cell elongation in germinating Lettuce seed. *Bull. Res. Council. Israël*, 6, 33-7, 1957.
25. — EVENARI (M.) and NEUMANN (G.) The germination of Lettuce seed. *Bull. Res. Council. Israël*, III, 1953.
26. — EVENARI (M.), NEUMANN (G.), and STEIN (G.) Action of blue light on the germination of seed. *Nature*, 180, 609-10, 1957.
27. — EVENARI (M.) and STEIN (G.) Influence of light upon the germination. *Experientia* IX (3), 94, 1953.
28. — FLINT (L.M.) and Mc ALISTER (E.D.) Wave lengths of radiation in the visible spectrum promoting the germination of light sensitive Lettuce seed. *Smith. Misc. Collection*, 96, 2, 1937.
29. — FRITH (J.L.) The germination of *Sporobolus virginicus*. *J. Austr. Inst. Agr. Sc.* 23 (1), 69-75, 1957.
30. — FUJII (T.), ISIKAWA (S.) and NAKAWARA (A.) The effects of gibberellin on the germination of the seeds of *Sedum kamtschaticum* Fisch. *Bot. Mag. Tokyo*, 73, 404-11, 1960.
31. — GASSNER (G.) Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes und des Temperaturwechsels auf die Keimung von *Chloris ciliata*. *Jahrb. Hamburg Wiss. Anstalt*, 29, 1-121, 1911.
32. — GASSNER (G.) Vorläufige Mitteilung neuerer Ergebnisse einer Keimungsuntersuchungen mit *Chloris ciliata*. *Ber. deut. botan. Ges.*, 29, 708-22, 1911.
33. — GASSNER (G.) Altes und Neues zur Frage des Zusammenwirkens von Licht und Temperatur bei der Keimung lichtempfindlicher Samen. *Ber. deut. botan. Ges.*, 33, 203-17, 1915.
34. — GASSNER (G.) Einige neue Fälle von keimungsauslösender Wirkung der Stickstoffverbindungen auf lichtempfindliche Samen. *Ber. deut. botan. Ges.*, 33, 217-32, 1915.

35. — GIMEST (N.I.) and POZSAR (B.I.) Physiological effect of heat stimulus on the germination of light and dark sensitive seeds. *Acta. Biol. Acad. Sc. Hungar.* 7 (2-3), 135-51, 1957.
36. — GOO (M.) When cell divisions begins in the germinating seeds of *Pinus thunbergii*. *Jap. Forest. Soc.*, 34, 3-4, 1952.
37. — GRAHL (A.) und THIELEBEIN (M.) Einfluss von Lichtes auf die Keimung der Gerste. *Naturwiss.* 46 (9), 336-7, 1959.
38. — GROSE (R.J.) and ZIMMER (W.J.) Preliminary laboratory studies in light requirements for the germination of some *Eucalyptus* seeds. *Austr. Forest*, 21 (2), 76-80, 1957.
39. — HABER (A.H.) and LUIPPOLD (H.J.) Separation of mechanisms initiating cell division and cell expansion in Lettuce seed germination. *Plant Physiol.*, 35, 168-73, 1960.
40. — HABER (A.H.) and LUIPPOLD (H.J.) Effects of gibberellin, kinetin, thiourea and photomorphogenic radiation on mitotic activity in dormant Lettuce seed. *Plant. Physiol.*, 35, 486-94, 1960.
41. — HABER (A.H.) and TOLBERT (N.E.) Effects of gibberellic acid, kinetin and light on the germination of Lettuce seed. In *Photoperiodism*, 197-206. Am. Assoc. Adv. Sc. Washington, 1959.
42. — HAMMOND (B.L.) Effect of gibberellin, sodium hypochloride, light and planting depth on germination of Guayule seed (*Parthenium argentatum* Gray). *Agro. J. U.S.A.*, 51 (10), 621-3, 1959.
43. — HASHIMOTO (T.) Increase in percentage of gibberellin-induced dark germination of Tobacco seeds by N compounds. *Bot. Mag. Tokyo*, 71, 845-6, 1958.
44. — HENDRICKS (S.B.) The photoreaction and associated changes of plant photomorphogenesis. In *Photoperiodism*, 423-38, Am. Assoc. Adv. Sc. Washington, 1959.
45. — HENDRICKS (S.B.), BORTHWICK (H.A.) and DOWNS (R.J.) Pigment conversion in the formation response of plants to radiation. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 42 (1), 19-26, 1956.
46. — HENDRICKS (S.B.), TOOLE (E.H.), TOOLE (V.K.) and BORTHWICK (H.A.) Photocontrol of plant development by the simultaneous excitations of two interconvertible pigments. III : Control of seed germination and axis elongation. *Bot. Gaz.* 121, 1-8, 1959.
47. — HESS (O.) Untersuchungen über die Einwirkungen chemischer Stoffe auf die Keimung lichtempfindlicher Samen. *Botan. Arch.* 5, 133-71, 1924.
48. — IKUMA (H.) and THIMANN (K.V.) The mechanism of germination in light sensitive Lettuce seed. *Plant Physiol. Suppl.* 33, XXIV, 1958.
49. — IKUMA (H.) and THIMANN (K.V.) Photosensitive site in Lettuce seed. *Science U.S.A.* 130, 568-69, 1959.
50. — IKUMA (H.) and THIMANN (K.V.) Effects of nitrogen atmosphere on the germination of photosensitive Lettuce seed. *Plant Physiol. Suppl.* XXIII, 1961.
51. — ISIKAWA (S.) Interaction of temperature and light in the germination of *Nigella* seeds. *Bot. Mag. Japan*, 70, 264-70 et 271-5, 1957.

52. — ISIKAWA (S.) and OOHUSA (T.) Effects of light upon the germination of spores of ferns. II : Two light periods of *Dryopteris*. *Bot. Mag. Japan*, 69, 131-7, 1952.
53. — ISIKAWA (S.) and SHIMOGAWARA (G.) Effects of light and temperature on the germination of forest trees I : light sensitivity and its degree. *J. Japan Forest Soc.* 36, 317-24, 1954.
54. — JONES (L.R.) and RIDDICK (J.A.) Separation of organic insecticides from plant and animal tissues. *Anal. Chem.* 24, 569-71, 1952.
55. — KADMAN-ZAHAVI (A.) The effect of light and temperature on the germination of *Amaranthus blitoides* seeds. *Bull. Res. Council. Israël*, IV (4), 370-4, 1955.
56. — KADMAN-ZAHAVI (A.) Effects of short and continuous illuminations on the germination of *Amaranthus retroflexus* seeds. *Bull. Res. Council. Israël* IX (1), 1-20, 1960.
57. — KAHN (A.) Promotion of Lettuce seed germination by gibberellin. *Plant Physiol.* 35, 333-9, 1960.
58. — KLEIN (S.) and PREISS (J.W.) Reversibility of the red-far red reaction by irradiation at different sites. *Nature*, 181, 200-1, 1958.
59. — KOLLER (D.) Germination regulating mechanisms in some desert seeds. III. : *Calligonum comosum*. *Ecology* 37 (3), 430-3, 1956.
60. — LANGERON (M.) *Précis de Microscopie*. Masson, Paris, 1949, 1280 p.
61. — LEGATT (L.W.) Germination of seeds of three species of *Agrostis*. *Canad. J. Res.* 24, 7-21, 1946.
62. — LEHMANN (E.) Ueber die Beeinflussung der Keimung lichtempfindlicher Samen durch die Temperatur. *Z. Botan.* 4, 465-529, 1912.
63. — LEHMANN (E.) Ueber die minimale Belichtungszeit welche die Keimung der Samen von *Lythrum Salicaria* auslöst. *Ber. deut. bot. Ges.*, 36, 157-63, 1918.
64. — LEIZOROWITZ (R.) and POLJAKOFF-MAYBER (A.) The effect of gibberellin and kinetin on the germination of some photosensitive desert seeds as compared with that of light. *Phyton*, 15 (2), 103-7, 1960.
65. — LIVERMAN (J.L.) Control of growth and reproductive process by red and far-red light. *Radiat. Res.*, Suppl. 2, 133-56, 1960.
66. — LONA (F.) L'acido gibberellico determina la germinazione dei semi di *Lactuca scariola* in fase di scoto-inibizione. *Ateneo Parmense* XXVII, 641-4, 1956.
67. — MAGNUS (W.) Hemmungstoffe und falsche Keimung. *Ber. deut. botan. Ges.* 38, 19-26, 1920.
68. — MAIER (W.) Untersuchungen zur Frage der Lichtwirkung auf die Keimung einiger *Poa* Arten. *Jahrb. wiss. Botan.*, 77, 321-92, 1933.
69. — MAIER (W.) Das keimungsphysiologische Verhalten von *Phleum pratense* L., dem Timotheegrass. *Jahrb. wiss. Botan.*, 78, 1-42, 1933.
70. — MEISCHKE (D.) Ueber den Einfluss der Strahlung auf Licht und Dunkelkeimer. *Jahrb. wiss. Botan.* 83, 359-405, 1936.
71. — MOHR (H.) Der Einfluss monochromatischer Strahlung auf das Längenwachstum des Hypokotyls und auf die Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Sinapis alba* L. *Planta* 49, 389-405, 1957.

72. — MOHR (H.) Der Lichteinfluss auf die Haarbildung am Hypokotyl von *Sinapis alba* L. *Planta* 53, 109-24, 1959.
73. — MOHR (H.) Der Lichteinfluss auf das Wachstum der Keimblätter bei *Sinapis alba* L. *Planta* 53, 219-45, 1959.
74. — MOHR (H.) The effects of long visible and near infra-red radiation on plants. In *Progress in photobiology*, Proc. Intern. Photobiol. Congr. 3 rd, Copenhagen, 1960.
75. — MOHR (H.) Wirkungen kurzwelligen Lichtes. *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. XVI, 439-531, 1961.
76. — MOHR (H.) und LUNENSCHLOSS (A.) Weitere Studien zur Photomorphogenese der Keimlinge von *Sinapis alba* L. *Naturwiss.*, 45 (23), 78-9, 1958.
77. — MOHR (H.) und PICHLER (I.) Der Einfluss hellroter und dunkelroter Strahlung auf die geotropische Reaktion der Keimlinge von *Sinapis alba* L. *Planta* 55, 57-66, 1960.
78. — MOHR (H.) und WEHRUNG (M.) Die Steuerung des Hypokotylwachstums bei den Keimlingen von *Lactuca sativa* L., durch sichtbare Strahlung. *Planta*, 55, 438-50, 1960.
79. — MORINAGA (T.) Effect of alternating temperature upon the germination of seeds. *Am. J. Bot.* 2, 141, 1926.
80. — NAGAO (M.), ESASHI (Y.), TANAKA (T.), KUMAGAI (T.), and FUKUMETO (S.) Effects of photoperiod and gibberellin on the germination of seeds of *Begonia Evansiana* Andr. *Plant and Cell Physiol.* I (1), 39-47, 1959.
81. — NICOLIC (M.) Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Keimung von *Phacelia tanacetifolia*. *Sitzber. Akad. Wiss. Wien. Math. Naturw. Kl. Abt. I*, (133), 626-41, 1924.
82. — NYMAN (B.) Effect of red and far-red irradiation on the germination process in seeds of *Pinus sylvestris* L. *Nature* 191 (4794), 1219-20, 1961.
83. — PAECH (K.) Ueber die Lichtkeimung von *Lythrum Salicaria*. *Planta*, 41 (6), 525-56, 1953.
84. — POLJAKOFF-MAYER (A.) Germination of the seeds of *Saccharum aegyptiacum* Willd. *Bull. Res. Council. Israël*. 7D, 93-4, 1959.
85. — POWELL (R.D.) Effect of light and temperature on the germination of Tobacco seed. *Plant Physiol. Suppl.* 33, XXIII, 1958.
86. — POWELL (R.D.) and GRIFFITH (M.M.) The effect of radiation on red. light induced growth of Bean leaves treated with kinetin and gibberellin. *Plant Physiol. Suppl.* 36, XIII, 1961.
87. — PRAT (H.) Microcalorimetric studies on germination of cereals. *Canad. J. Bot.* 30, 379, 1952.
88. — RAO (L.) Quantitative Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Samenkeimung von *Lythrum Salicaria*. *Jahrb. wiss. Botan.*, 64, 249-50, 1925.
89. — RESUHR (B.) Grenzen keimungsphysiologischer Methodik. *Ber. deut. botan. Ges.*, 57, 315-25, 1939.

90. — RICHARDSON (S.D.) Germination of Douglas-Fir seed as affected by light, temperature and gibberellic acid. *Forest. Sc.* 5 (2), 174-81, 1959.
91. — ROLLIN (P.) Action de la température et de la lumière sur la germination des akènes de *Bidens tripartita* L. (Composées). *Rev. Gén. Bot.* 63, 461-77, 1956.
92. — ROLLIN (P.) Action de la lumière et de la température sur la germination des akènes de *Bidens tripartita*. *C.R. Acad. Sc.*, 243, 300-2, 1956.
93. — ROLLIN (P.) Mise en évidence de deux dormances chez les akènes de *Bidens radiata*. *Rev. Gén. Bot.* 66, 636-45, 1959.
94. — ROLLIN (P.) Action de la lumière sur la germination des graines de *Phacelia tanacetifolia*. *Rev. Gén. Bot.*, 65, 440-58, 1958.
95. — ROLLIN (P.) Influence de l'acide gibbérélique sur la germination des semences photosensibles. *Bull. Soc. Fr. Physiol. Vég.*, 5 (1), 24-6, 1959.
96. — ROLLIN (P.) et BIDAULT (Y.) Etude des facteurs déterminant la germination des graines de *Lythrum Salicaria*. *Photochem. and Photobiol.* (sous presse).
97. — SHROPSHIRE (W. Jr.), KLEIN (W.H.) and ELSTAD (V.B.) Action spectra of photomorphogenic induction in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiol.* 2 (1), 63-9, 1961.
98. — SIEGEL (M.) Effects of exposures of seeds to various agents I Effects of brief exposure to heat and cold on germination and light sensitivity. *Bot. Gaz.* 112, 57-70, 1950.
99. — SIFTON (H.B.) The germination of light sensitive seeds of *Typha latifolia* L. *Canad. J. Bot.*, 37, 719-39, 1959.
100. — SIRCAR (S.M.) and BISWAS (M.) Viability and germination of the seed of Rice. *Nature*, 187, 620-1, 1960.
101. — SNEDECOR (G.W.) *Statistical methods*. Collegiate Press Inc., Ames, Iowa, 1938.
102. — SORIANO (A.) Estudios sobre germinacion I. *Revista de investigaciones agrícolas VII* (4), 315-40, 1953.
103. — STEARNS (F.) and OLSON (J.S.) Interactions of photoperiod and temperature affecting seed germination in *Tsuga canadensis*. *Am. J. Bot.*, 45, 53-8, 1958.
104. — STILES (W.) *An introduction to the principles of plant physiology*. Methuen, Londres, 1950, 701 p.
105. — STILES (W.) Respiration in seed germination and seedling development *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, XII (2), 465-92, 1960.
106. — SROTZKY (G.), COSC (E.) and GOOS (R.) Alternating temperature requirement for the germination of *Musa balbisiana* seeds, *Plant Physiol. Suppl.* 27, XXI — XXII, 1961.
107. — THOMPSON (R.C.) and HORN (N.L.) Germination of lettuce seed at higher temperature (25 to 35° C) stimulated by thiourea. *Proc. Am. Soc. Hort. Sc.* 45, 431-9, 1944.
108. — THOMPSON (R.C.) and KOSAR (W.F.) The germination of lettuce seed stimulated by the chemical treatment. *Science*, 87, 218-9, 1938.

109. — THOMPSON (R.V.) and KOSAR (W.F.) Stimulation of germination of dormant lettuce seed by sulfur compounds. *Plant Physiol.*, 14, 567-73, 1939.
110. — TOOLE (E.H.) The transformations and course of development of germinating maize. *Am. J. Bot.* 11, 325-80, 1924.
111. — TOOLE (E.H.) Observations on the germination of freshly harvested Timothy seed. *C.R. Assoc. Inter. Essais Semences*, 2, 119-39, 1939.
112. — TOOLE (E.H.) Effect of light on the germination of seeds. In *Photoperiodism and related phenomena in plants and animals*. 89-100, Am. Assoc. Adv. Sc. Washington 1959.
113. — TOOLE (E.H.), HENDRICKS (S.B.), BORTHWICK (H.A.) and TOOLE (V.K.) Physiology of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 299-324, 1956.
114. — TOOLE (E.H.), SNOW (A.G.) TOOLE (V.K.) and BORTHWICK (H.A.) Effects of light and temperature on the germination of Virginia pine seeds. *Plant Physiol. Suppl.* 31, XXXVI, 1956.
115. — TOOLE (E.H.) and TOOLE (V.K.) Progress of germination of seed of *Digitaria* as influenced by germination temperature and other factors. *J. Agr. Res.*, 63 (2), 65-90, 1941.
116. — TOOLE (E.H.) TOOLE (V.K.), BORTHWICK (H.A.) and HENDRICKS (S.B.) Interaction of temperature and light in germination of seeds. *Plant Physiol.* 30 (5), 473-8, 1955.
117. — TOOLE (E.H.), TOOLE (V.K.), BORTHWICK (H.A.) and HENDRICKS (S.B.) Photocontrol of *Lepidium* seeds germination. *Plant Physiol.*, 30 (1), 15-21, 1955.
118. — TOOLE (E.H.), TOOLE (V.K.), BORTHWICK (H.A.), HENDRICKS (S.B.) and DOWNS (R.J.) Action of light on germination of seeds of *Pau-
lownia tomentosa*. *Plant Physiol. Suppl.* 33, XXIII, 1958.
119. — TOOLE (V.K.), BORTHWICK (H.A.), TOOLE (E.H.) and SNOW (A.G.) The germination response of *Pinus taeda* to light. *Plant Physiol. Suppl.* 33, XXIII, 1958.
120. — TOOLE (V.K.) and CATHEY (H.M.) Responses to gibberellin of light requiring seeds of Lettuce and *Lepidium virginicum*. *Plant Physiol.*, 36 (5), 663-71, 1961.
121. — TOOLE (V.K.), TOOLE (E.H.), HENDRICKS (S.B.) and BORTHWICK (H.A.) Responses of seeds of *Pinus virginiana* to light. *Plant Physiol.* 36 (3), 285-90, 1961.
122. — WAREING (P.F.) and BLACK (H.) Similar effects of blue and infra red radiation on light sensitive seeds. *Nature*, 181, 1420-1, 1958.
123. — WEISZ (J.) Action des températures relativement basses sur la germination dans la kinétine des semences de Laitue variété « Grand Rapids ». *C.R. Acad. Sc.* 251, 125-7, 1960.
124. — WITHROW (R.B.) A kinetic analysis of photoperiodism. In *Photoperiodism and related phenomena in plants and animals* 439-74. Ass. Adv. Sci. Washington 1959.
125. — WOLF (S.) Some aspects of the chemical protections against radiation damage to *Vicia faba* chromosomes. *Genetics*, 39, 356-64, 1954.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.	3
-----------------------	---

PREMIERE PARTIE : HISTORIQUE

I. — LA PHOTOSTIMULATION DE LA GERMINATION

A. — INFLUENCE DE LA LUMIERE.	5
1. — Action quantitative.	5
2. — Action qualitative lors d'un éclaircissement de faible durée.	6
3. — Action qualitative lors d'un éclaircissement continu.	9
4. — Nature des photorécepteurs.	9
B. — MODIFICATIONS DE L'ACTION DE LA LUMIERE.	10
1. — Influence de la température.	10
2. — Influence des téguments.	11
3. — Influence des fortes tensions d'oxygène.	12
4. — Influence des stimulants de la germination.	12
C. — CONCLUSIONS.	15

II. — LA PHOTOINHIBITION DE LA GERMINATION

A. — INFLUENCE DE LA LUMIERE.	15
B. — MODIFICATIONS DE L'ACTION DE LA LUMIERE.	16
C. — CONCLUSIONS.	16

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET TECHNIQUES

I. — LES SEMENCES ÉTUDIÉES

A. — CARACTERISTIQUES DES SEMENCES.	17
B. — METHODE DE CONSERVATION DES SEMENCES.	18
C. — METHODE DE SEMIS.	18

II. — MÉTHODE D'ÉTUDE DE L'ACTION DE LA LUMIÈRE

A. — CARACTERISTIQUES DES ETUVES.	18
B. — CARACTERISTIQUES DES FILTRES INTERFERENTIELS.	20
C. — MESURE DU NIVEAU D'ÉCLAIREMENT.	22

III. — INTERPRÉTATIONS DES RÉSULTATS

A. — DENOMBREMENT DES GERMINATIONS.	23
B. — ÉTUDE STATISTIQUE DES RÉSULTATS.	23
C. — EXPRESSIONS DES RÉSULTATS.	30

IV. — AUTRES TECHNIQUES UTILISÉES

A. — MESURE DE L'HYDRATATION DES GRAINES.	31
B. — ÉTUDE DE L'INTENSITÉ RESPIRATOIRE.	31
C. — ÉTUDE HISTOLOGIQUE.	32

D. — ETUDE DES SUBSTANCES DE CROISSANCE CONTENUES DANS LES SEMENCES.	32
E. — ETUDE DE L'INFLUENCE DE L'OXYGENE SUR LA GERMINATION.	34
F. — ETUDE DES PIGMENTS PRESENTS DANS LES SEMENCES.	34

TROISIEME PARTIE : LA PHOTOINHIBITION DE LA GERMINATION

I. — LA PHOTOINHIBITION DE LA GERMINATION DES GRAINES DE <i>PHACELIA TANACETIFOLIA</i>	
A. — CONDITIONS D'ETUDE DE LA PHOTOINHIBITION.	35
B. — DETERMINATION DES PHASES DE LA GERMINATION.	39
C. — ACTION QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DE LA LUMIERE.	42
1. — Influence de la lumière blanche.	42
2. — Influence de la lumière rouge.	45
a. Détermination du spectre d'action isoquantique.	45
b. Influence de la lumière rouge clair.	46
c. Influence de la lumière rouge sombre.	51
d. Influence des lumières rouge clair et rouge sombre.	59
3. — Influence de la lumière bleue.	59
4. — Comparaison entre l'action des lumières rouge sombre et bleue.	64
5. — Conclusions.	65
D. — FACTEURS CAPABLES DE MODIFIER LA PHOTOINHIBITION.	66
1. — Facteurs modifiant la photoinhibition due à la lumière rouge clair.	66
2. — Facteurs modifiant la photoinhibition due à la lumière rouge sombre.	70
3. — Facteurs modifiant la photoinhibition due à la lumière bleue.	82
4. — Facteurs modifiant la photoinhibition due à la lumière rouge.	84
E. — CONCLUSIONS SUR LA PHOTOINHIBITION DE LA GERMINATION DES GRAINES DE <i>PHACELIA TANACETIFOLIA</i>	86
II. -- LA PHOTOINHIBITION DE LA GERMINATION DES GRAINES DE <i>NEMOPHILA INSIGNIS</i>	
A. — INFLUENCE DE LA TEMPERATURE.	88
B. — LES PHASES DE LA GERMINATION.	89
C. — ACTION QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DE LA LUMIERE.	90

1. — Influence de la lumière rouge clair	90
2. — Influence de la lumière rouge sombre	90
3. — Influence de la lumière bleue	93
D. — FACTEURS MODIFIANT L'ACTION DE LA LUMIERE	93
1. — Influence de l'acide gibbérélique	93
2. — Influence de l'acide indolylacétique	94
3. — Influence de l'acide gibbérélique et de l'acide indolyl- lacétique	94
4. — Etude des substances de croissance endogènes	95
E. — CONCLUSIONS SUR LA PHOTOINHIBITION DE LA GERMINATION DES GRAINES DE <i>NENOPHILA</i> <i>INSIGNIS</i>	100

QUATRIEME PARTIE : LA PHOTOSTIMULATION DE LA GERMINATION

I. — LA PHOTOSTIMULATION DE LA GERMINATION DES SEMENCES DE <i>BIDENS RADIATA</i>	
A. — INFLUENCE DE LA TEMPERATURE ET DE LA LUMIERE SUR LA GERMINATION DES SEMENCES	101
1. — Germination des akènes	101
2. — Germination des graines	105
3. — Germination des embryons	107
4. — Conclusions	107
B. — LES PHASES DE LA GERMINATION	108
C. — CARACTERISTIQUES DU PROCESSUS PHOTOSENSIBLE	110
1. — Relations entre la température et la photoréaction	110
2. — Spectre d'action de la lumière	111
3. — Conclusions	122
D. — INFLUENCE DES SUBSTANCES STIMULANT LA GER- MINATION	123
1. — Influence des nitrates et des nitrites	123
2. — Influence de la thiourée	128
3. — Influence de la kinétine	134
4. — Influence de l'acide gibbérélique	141
E. — CONCLUSIONS SUR LA PHOTOSTIMULATION DE LA GERMINATION DES AKENES DE <i>BIDENS RADIATA</i>	145
II. — LA PHOTOSTIMULATION DE LA GERMINATION DES GRAINES DE <i>LYTHRUM SALICARIA</i>	
A. — INFLUENCE DE LA TEMPERATURE ET DE LA LUMIERE	146
B. — CARACTERISTIQUES DU PROCESSUS PHOTOSENSIBLE	148
1. — Action de la lumière rouge clair	148
2. — Action de lumière rouge sombre après exposition des graines à la lumière rouge clair	150

3. — Action d'un éclaircissement continu de lumière rouge sombre.	150
4. — Conclusions.	151
C. — INFLUENCE DES SUBSTANCES STIMULANT LA GER- MINATION.	152
1. — Influence des nitrates et des nitrites.	152
2. — Influence de la thiourée.	154
3. — Influence de l'acide gibbéréllique.	156
D. — CONCLUSIONS SUR LA PHOTOSTIMULATION DE LA GERMINATION DES GRAINES DE <i>LYTHRUM SALI- CARIA</i> .	157
DISCUSSION ET CONCLUSIONS.	159
BIBLIOGRAPHIE.	171

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

" Les anthocyanes "

Vu et approuvé :

Paris, le 11 mars 1963

Le Doyen de la Faculté des Sciences.

Marc ZAMANSKY

Vu et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris.

Jean ROCHE

